

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

26. 3. 2004

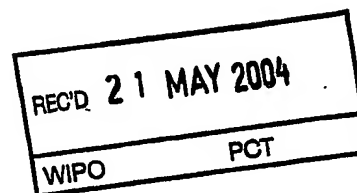
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 3月28日  
Date of Application:

出願番号 特願2003-092898  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP 2003-092898]

出願人 古澤 満  
Applicant(s): 株式会社ネオ・モルガン研究所

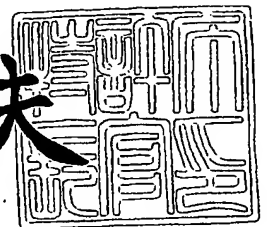


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月30日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3037187

【書類名】 特許願

【整理番号】 J102519311

【提出日】 平成15年 3月28日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A01N

【発明者】

【住所又は居所】 東京都江戸川区西葛西 6-6-8 西葛西 パークファ  
ミリア 605

【氏名】 古澤 ▲満▼

【特許出願人】

【住所又は居所】 東京都江戸川区西葛西 6-6-8 西葛西 パークファ  
ミリア 605

【氏名又は名称】 古澤 ▲満▼

【特許出願人】

【住所又は居所】 東京都千代田区内幸町 1-1-1

【氏名又は名称】 株式会社ネオ・モルガン研究所

【代理人】

【識別番号】 100078282

【弁理士】

【氏名又は名称】 山本 秀策

【選任した代理人】

【識別番号】 100062409

【弁理士】

【氏名又は名称】 安村 高明

【選任した代理人】

【識別番号】 100113413

【弁理士】

【氏名又は名称】 森下 夏樹

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001878

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 所望の形質を生物に迅速に付与する方法およびシステム

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 生物の遺伝形質の変換速度を調節する方法であって、

(a) 該生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を調節する工程、  
を包含する、方法。

【請求項 2】 前記エラープロン頻度を調節する工程は、前記生物の DNA ポリメラーゼのエラープロン頻度を調節することを包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】 前記 DNA ポリメラーゼは、校正機能を有する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】 前記 DNA ポリメラーゼは、真核生物における DNA ポリメラーゼ  $\delta$  および DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  からなる群より選択される少なくとも 1 つのポリメラーゼを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】 前記エラープロン頻度の調節は、真核生物における DNA ポリメラーゼ  $\delta$  および DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  からなる群より選択される少なくとも 1 つのポリメラーゼの校正活性を調節することを包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】 前記エラープロン頻度の調節は、エラープロン頻度を野生型よりも上げることが包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、野生型のものよりも低い、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、野生型 DNA ポリメラーゼよりも少なくとも 1 つの塩基配列多い変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 9】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、少なくとも 1 つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 10】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、少なくとも 2 つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。



【請求項 11】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-6}$  の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 12】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-3}$  の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 13】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-2}$  の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 14】 前記生物は、真核生物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】 前記生物は、単細胞生物または多細胞生物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】 前記生物は、動物、植物または酵母である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】 前記生物は、哺乳動物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】 前記生物は、所望の形質の変換後も、野生型と実質的に同じ成長を示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 19】 前記生物は、該生物が改変前において耐性を有していなかった環境に対する耐性を示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】 前記環境は、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、前記生物とは異なる他の生物、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも 1 つの因子をパラメータとして包含する、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】 前記生物は、がん細胞を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 22】 遺伝形質が調節された生物を生産する方法であって、

(a) 該生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；  
および

(b) 得られた該生物を再生産する工程、  
を包含する、方法。

【請求項 23】 前記再生産した生物のうち、所望の形質を有する個体を選択する工程をさらに包含する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】 前記エラープロン頻度を調節する工程は、前記生物の DNA ポリメラーゼのエラープロン頻度を調節することを包含する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】 前記 DNA ポリメラーゼは、校正機能を有する、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】 前記 DNA ポリメラーゼは、真核生物における DNA ポリメラーゼ  $\delta$  および DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  からなる群より選択される少なくとも 1 つのポリメラーゼを含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】 前記エラープロン頻度の調節は、真核生物における DNA ポリメラーゼ  $\delta$  および DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  からなる群より選択される少なくとも 1 つのポリメラーゼの校正活性を調節することを包含する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 28】 前記エラープロン頻度の調節は、エラープロン頻度を野生型よりも上げることが包含する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 29】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、野生型のものよりも低い、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 30】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、野生型 DNA ポリメラーゼよりも少なくとも 1 つの塩基配列多い変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 31】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、少なくとも 1 つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 32】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、少なくとも 2 つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 33】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-6}$  の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 34】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-3}$  の割合で

塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法

。

【請求項 35】 前記 DNA ポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-2}$  の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、請求項 25 に記載の方法

。

【請求項 36】 前記生物は、真核生物である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 37】 前記生物は、単細胞生物または多細胞生物である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 38】 前記生物は、動物、植物または酵母である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 39】 前記生物は、哺乳動物である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 40】 前記遺伝形質が調節された生物は、野生型と実質的に同じ成長を示す、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 41】 前記生物は、該生物が改変前において耐性を有していなかった環境に対する耐性を示す、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 42】 前記環境は、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、前記生物とは異なる他の生物、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも 1 つの因子をパラメータとして包含する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 43】 前記生物は、がん細胞を有する、請求項 22 に記載の方法

。

【請求項 44】 請求項 22 に記載の方法によって生産された、遺伝形質が調節された生物。

【請求項 45】 前記生物は、野生型と実質的に同じ成長を示す、請求項 44 に記載の生物。

【請求項 46】 遺伝形質が調節された遺伝子をコードする核酸分子を生産する方法であって、

(a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程；

- (b) 得られた該生物を再生産する工程；
  - (c) 該生物において変異を同定する工程；および
  - (d) 同定された変異を含む遺伝子をコードする核酸分子を生産する工程、
- を包含する、方法。

【請求項 47】 請求項 46 に記載の方法によって生産された、核酸分子。

【請求項 48】 遺伝形質が調節された遺伝子がコードするポリペプチドを生産する方法であって、

- (a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程；
- (b) 得られた該生物を再生産する工程；
- (c) 該生物において変異を同定する工程；および
- (d) 同定された変異を含む遺伝子がコードするポリペプチドを生産する工程

を包含する、方法。

【請求項 49】 請求項 48 に記載の方法によって生産された、ポリペプチド。

【請求項 50】 遺伝形質が調節された生物の代謝物を生産する方法であって、

- (a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程；
- (b) 得られた該生物を再生産する工程；
- (c) 該生物において変異を同定する工程；および
- (d) 同定された変異を含む代謝物を生産する工程、

を包含する、方法。

【請求項 51】 請求項 50 に記載の方法によって生産された、代謝物。

【請求項 52】 生物の遺伝形質を調節するための核酸分子であって、該核酸分子は、エラープローン頻度を調節された DNA ポリメラーゼをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

【請求項 53】 前記 DNA ポリメラーゼは、真核生物における DNA ポリメラーゼ  $\delta$  または  $\epsilon$  である、請求項 52 に記載の核酸分子。

【請求項 54】 請求項 52 に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 55】 請求項 52 に記載の核酸分子を含む、細胞。

【請求項 56】 真核生物細胞である、請求項 55 に記載の細胞。

【請求項 57】 請求項 52 に記載の核酸分子を含む、生物。

【請求項 58】 請求項 44 に記載の生物またはその一部が生産する、生産物質。

【請求項 59】 請求項 44 に記載の生物またはその一部に含まれる、核酸分子。

【請求項 60】 前記調節された遺伝形質を担う遺伝子をコードする、請求項 59 に記載の核酸分子。

【請求項 61】 請求項 44 に記載の生物を病態モデルとして使用して薬剤の効果を試験する工程、コントロールとして野生型の生物を使用して薬剤の効果を試験する工程、および該病態モデルと該コントロールとの対比を行う工程を包含する、薬剤の試験方法。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

##### 【発明が属する技術分野】

本発明は、生物の遺伝形質を迅速に改変する方法およびこの方法によって得られた生物に関する。

##### 【0002】

##### 【従来の技術】

生物の遺伝形質を改変することは、有史以来人類が行ってきた試みである。いわゆる遺伝子工学が発展する前は、かけあわせなどによって所望の形質を有する生物を得ようとし、あるいは、放射線などによる変異体を偶然に発見し、そのような変異体を分離することによって、遺伝形質が改変された生物を得てきていた。

##### 【0003】

近年の遺伝子工学の発展により、遺伝形質が改変された生物を得ることは、かなり容易になっている。遺伝子工学による遺伝子改変生物の生産において、外来遺伝子を生物に導入することが広く行われている。しかし、そのような外来遺伝

子を生物に導入しただけでは、所望の遺伝形質を得られないことも多く、また、天然の進化とは矛盾する操作を行うことから、予想外の結果を招くこともある。したがって、当局は、いわゆる遺伝子組換え（GMO）由来の食品は、従来の食品よりも厳しい規制をかけている。

#### 【0004】

したがって、当該分野において、天然の進化に即しつつ、所望の遺伝形質を生物に付与する方法およびそのような生物を生産する方法に対する要望はますます強まるばかりである。

#### 【0005】

現在までに知られている変異誘発方法としては、以下のものが知られている。

#### 【0006】

(1) 自然変異：生物が通常的环境下で正常に生育しているときに発生する変異を、自然変異という。自然変異の主な原因は、DNA複製時の誤りと、内在性の変異原物質（ヌクレオチドアナログ）であると考えられている（非特許文献1）。

#### 【0007】

(2) 放射線、変異原物質などによる処理：紫外線やX線などの放射線処理、あるいはアルキル化剤のような人工的な変異原物質処理によって、DNAに損傷が生じる。その損傷は、DNA複製の過程で変異に固定される。

#### 【0008】

(3) PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）法の利用：PCR法は、試験管内でDNAを増幅するため、細胞内の変異抑制機構の一部が欠けており、高頻度に変異の誘発が可能である。また、遺伝子シャフリング法（非特許文献2）と組み合わせることで、有害変異の蓄積を避け、複数の有益変異を遺伝子に蓄積することができる。

#### 【0009】

(4) 変異因子（またはミューテーター）の利用：ほとんどすべての生物では、変異抑制機構によって、自然変異の発生率が非常に低いレベルに保たれている。この変異抑制機構には、10種類以上の遺伝子が関与した複数の段階が存在す

る。これらの遺伝子の1つあるいは複数が破壊された個体は、高い頻度で変異を発生するので、ミューテーターと呼ばれている。また、これらの遺伝子は、ミューテーター遺伝子と呼ばれている（非特許文献1および3）。

#### 【0010】

ミューテーターを利用した方法に分類されるものに、デイスパリティー法がある（非特許文献4および5）。しかし、このデイスパリティー法では、実際に生産された生物が正常な成長曲線を示すかどうか判明していない。また、デイスパリティー法を用いて天然に生じる進化が迅速化されるかどうかはまだ実証されていない。

#### 【0011】

1) 複数の複製開始点を持つ複数の染色体よりなる2倍体以上の“高等生物”における不均衡変異モデルのシミュレーションでは、致死的な変異が入る可能性も否定できておらず、実際の方法に使用され得るか不明であると考えられる。

#### 【0012】

2) 不均衡モデルのシミュレーションに於いては、たとえば複製精度の低い不連続鎖には変異がランダムに入るとしているが、実際の生物では所謂Hot spotに入り、障害的な変異は少ないと考えられる。

#### 【0013】

3) これまでに試みられた大腸菌の不均衡変異株をもちいた薬剤耐性実験では、導入された変異についてゲノムの塩基配列を決定していない。塩基配列を決定しておらず、本当に変異が入っているか、およびどの場所にはいつているかが不明である。

#### 【0014】

4) ゲノムレベルの解析で本当に変異が不均衡に入っているかどうか確かめられた実験はなく、配列決定の技術自体が簡単に行えることにかんがみると、変異が入ったということを報告した例はまったくないといえる。

#### 【0015】

#### 【非特許文献1】

真木, 「自然変異と修復機構」, 細胞工学 Vol. 13 No. 8, pp.

663-672, 1994

【非特許文献2】

Stemmer, Nature Vol. 370, pp. 389-391,  
Aug. 1994

【非特許文献3】

Horst et. al., Trends in Microbiology  
Vol. 7 No. 1, pp. 29-36, Jan. 1999

【非特許文献4】

Furusawa M. and Doi H., J. Theor. Biol.  
157, pp. 127-133, 1992

【非特許文献5】

Furusawa M. and Doi H., Genetica 103,  
pp. 333-347, 1998

【0016】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、天然の進化に即しつつ、所望の遺伝形質を生物に付与する方法を提供することを課題とする。

【0017】

【課題を解決するための手段】

上記課題は、本発明者らが、生物の進化の速度が時間の函数でないことを見出し、生物のエラープローン頻度を調節することにより進化速度を調節することができることを見出し、実際の生物において進化速度が改変された生物が天然に得られる進化した生物と同じ増殖速度で増殖することを実証することによって解決された。

【0018】

したがって、本発明は以下を提供する。

【0019】

- (1) 生物の遺伝形質の変換速度を調節する方法であって、
  - (a) 上記生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節する工程、



を包含する、方法。

【0020】

(2) 上記エラープロン頻度を調節する工程は、上記生物のDNAポリメラーゼのエラープロン頻度を調節することを包含する、項目1に記載の方法。

【0021】

(3) 上記DNAポリメラーゼは、校正機能を有する、項目2に記載の方法

。

【0022】

(4) 上記DNAポリメラーゼは、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ からなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼを含む、項目2に記載の方法。

【0023】

(5) 上記エラープロン頻度の調節は、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ からなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼの校正活性を調節することを包含する、項目1に記載の方法。

【0024】

(6) 上記エラープロン頻度の調節は、エラープロン頻度を野生型よりも上げることを包含する、項目1に記載の方法。

【0025】

(7) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、野生型のものよりも低い、項目3に記載の方法。

【0026】

(8) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、野生型DNAポリメラーゼよりも少なくとも1つの塩基配列多い変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0027】

(9) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも1つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0028】

(10) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも2つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0029】

(11) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、10-6の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0030】

(12) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、10-3の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0031】

(13) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、10-2の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目3に記載の方法。

【0032】

(14) 上記生物は、真核生物である、項目1に記載の方法。

【0033】

(15) 上記生物は、単細胞生物または多細胞生物である、項目1に記載の方法。

【0034】

(16) 上記生物は、動物、植物または酵母である、項目1に記載の方法。

【0035】

(17) 上記生物は、哺乳動物である、項目1に記載の方法。

【0036】

(18) 上記生物は、所望の形質の変換後も、野生型と実質的に同じ成長を示す、項目1に記載の方法。

【0037】

(19) 上記生物は、上記生物が改変前において耐性を有していなかった環境に対する耐性を示す、項目1に記載の方法。

【0038】

(20) 上記環境は、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、

音波、上記生物とは異なる他の生物、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも1つの因子をパラメータとして包含する、項目19に記載の方法。

**【0039】**

(21) 上記生物は、がん細胞を有する、項目1に記載の方法。

**【0040】**

(22) 遺伝形質が調節された生物を生産する方法であって、

(a) 上記生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；および

(b) 得られた上記生物を再生産する工程、  
を包含する、方法。

**【0041】**

(23) 上記再生産した生物のうち、所望の形質を有する個体を選択する工程をさらに包含する、項目22に記載の方法。

**【0042】**

(24) 上記エラープロン頻度を調節する工程は、上記生物のDNAポリメラーゼのエラープロン頻度を調節することを包含する、項目22に記載の方法。

**【0043】**

(25) 上記DNAポリメラーゼは、校正機能を有する、項目24に記載の方法。

**【0044】**

(26) 上記DNAポリメラーゼは、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ からなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼを含む、項目24に記載の方法。

**【0045】**

(27) 上記エラープロン頻度の調節は、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ からなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼの校正活性を調節することを包含する、項目22に記載の方法。

## 【0046】

(28) 上記エラープロン頻度の調節は、エラープロン頻度を野生型よりも上げることを含む、項目22に記載の方法。

## 【0047】

(29) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、野生型のものよりも低い、項目25に記載の方法。

## 【0048】

(30) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、野生型DNAポリメラーゼよりも少なくとも1つの塩基配列多い変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0049】

(31) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも1つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0050】

(32) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも2つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0051】

(33) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-6}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0052】

(34) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-3}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0053】

(35) 上記DNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-2}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である、項目25に記載の方法。

## 【0054】

(36) 上記生物は、真核生物である、項目22に記載の方法。

## 【0055】

(37) 上記生物は、単細胞生物または多細胞生物である、項目22に記載

の方法。

【0056】

(38) 上記生物は、動物、植物または酵母である、項目22に記載の方法

。

【0057】

(39) 上記生物は、哺乳動物である、項目22に記載の方法。

【0058】

(40) 上記遺伝形質が調節された生物は、野生型と実質的に同じ成長を示す、項目22に記載の方法。

【0059】

(41) 上記生物は、上記生物が改変前において耐性を有していなかった環境に対する耐性を示す、項目22に記載の方法。

【0060】

(42) 上記環境は、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、上記生物とは異なる他の生物、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも1つの因子をパラメータとして包含する、項目40に記載の方法。

【0061】

(43) 上記生物は、がん細胞を有する、項目22に記載の方法。

【0062】

(44) 項目22に記載の方法によって生産された、遺伝形質が調節された生物。

【0063】

(45) 上記生物は、野生型と実質的に同じ成長を示す、項目44に記載の生物。

【0064】

(46) 遺伝形質が調節された遺伝子をコードする核酸分子を生産する方法であって、

- (a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；
  - (b) 得られた上記生物を再生産する工程；
  - (c) 上記生物において変異を同定する工程；および
  - (d) 同定された変異を含む遺伝子をコードする核酸分子を生産する工程、
- を包含する、方法。

**【0065】**

- (47) 項目46に記載の方法によって生産された、核酸分子。

**【0066】**

- (48) 遺伝形質が調節された遺伝子がコードするポリペプチドを生産する方法であって、

- (a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；
- (b) 得られた上記生物を再生産する工程；
- (c) 上記生物において変異を同定する工程；および
- (d) 同定された変異を含む遺伝子がコードするポリペプチドを生産する工程

を包含する、方法。

**【0067】**

- (49) 項目48に記載の方法によって生産された、ポリペプチド。

**【0068】**

- (50) 遺伝形質が調節された生物の代謝物を生産する方法であって、
- (a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；
  - (b) 得られた上記生物を再生産する工程；
  - (c) 上記生物において変異を同定する工程；および
  - (d) 同定された変異を含む代謝物を生産する工程、

を包含する、方法。

**【0069】**

- (51) 項目50に記載の方法によって生産された、代謝物。

**【0070】**

- (52) 生物の遺伝形質を調節するための核酸分子であって、上記核酸分子

は、エラープロン頻度を調節されたDNAポリメラーゼをコードする核酸配列を含む、核酸分子。

【0071】

(53) 上記DNAポリメラーゼは、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ または $\epsilon$ である、項目52に記載の核酸分子。

【0072】

(54) 項目52に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【0073】

(55) 項目52に記載の核酸分子を含む、細胞。

【0074】

(56) 真核生物細胞である、項目55に記載の細胞。

【0075】

(57) 項目52に記載の核酸分子を含む、生物。

【0076】

(58) 項目44に記載の生物またはその一部が生産する、生産物質。

【0077】

(59) 項目44に記載の生物またはその一部に含まれる、核酸分子。

【0078】

(60) 上記調節された遺伝形質を担う遺伝子をコードする、項目59に記載の核酸分子。

【0079】

(61) 項目44に記載の生物を病態モデルとして使用して薬剤の効果を試験する工程、コントロールとして野生型の生物を使用して薬剤の効果を試験する工程、および上記病態モデルと上記コントロールとの対比を行う工程を包含する、薬剤の試験方法。

【0080】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、

本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。

#### 【0081】

(用語)

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

#### 【0082】

本明細書において「生物」とは、当該分野における最も広義に用いられ、生命現象を営むものをいい、代表的には、細胞構造、増殖（自己再生産）、成長、調節性、物質代謝、修復能力など種々の特性を有し、通常、核酸のつかさどる遺伝と、タンパク質のつかさどる代謝の関与する増殖を基本的な属性として有する。生物には、原核生物、真核生物（酵母のような単細胞生物、植物、動物のような多細胞生物など）などが包含される。本発明の方法は、どのような生物であっても適用され得ることが理解される。

#### 【0083】

本明細書において「真核生物」とは、当該分野において通常用いられる意味と同様に用いられ、核膜のある、明確な核構造を持つ細胞からなる生物をいう。真核生物としては、例えば、酵母のような単細胞生物、イネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズのような植物、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ブタ、サルのような動物、ハエ、カイコなどの昆虫が挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、酵母、線虫、ショウジョウバエ、カイコ、イネ、コムギ、ダイズ、トウモロコシ、シロイヌナズナ、ヒト、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ブタ、カエル、魚類（例えば、ゼブラフィッシュ）などがモデルとして使用され得るがそれらに限定されない。

#### 【0084】

本明細書において「原核生物」とは、当該分野において通常用いられる意味と同様に用いられ、明確な核構造を持たない細胞からなる生物をいう。原核生物としては、例えば、大腸菌、サルモネラ菌のようなグラム陰性細菌、枯草菌、放線菌、ブドウ球菌のようなグラム陽性細菌、藍藻類、水素細菌などが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、代表的に、大腸菌、枯草菌、水素細菌が



モデルとして使用され得るがそれに限定されない。

#### 【0085】

本明細書において「単細胞生物」とは、当該分野において通常用いられる意味と同様に用いられ、一つの細胞からなる生物をいう。単細胞生物には、真核生物および原核生物の両方が含まれる。単細胞生物の例としては、例えば、細菌（例えば、大腸菌、枯草菌など）、酵母、藍藻類などが挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0086】

本明細書において「多細胞生物」とは、複数の細胞（通常、複数の異なる種類の細胞）が一個体をなす生物をいう。多細胞生物は、その生物を構成する細胞種が異なることから、その生物の生命の維持には単細胞生物とは異なり高度な恒常性維持などのメカニズムが必要とされる。真核生物には多細胞生物が多い。多細胞生物には、動物、植物、昆虫などが含まれる。

#### 【0087】

本明細書において「動物」は、当該分野において最も広義で用いられ、脊椎動物および無脊椎動物（例えば、節足動物）を含む。動物としては、哺乳綱、鳥綱、爬虫綱、両生綱、魚綱、昆虫綱、蠕虫綱などが挙げられるがそれらに限定されない。動物は、好ましくは、脊椎動物（例えば、メクラウナギ類、ヤツメウナギ類、軟骨魚類、硬骨魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳動物など）であり得るが、それらに限定されない。ある一つの実施形態では、動物は、哺乳動物（例えば、単孔類、有袋類、貧歯類、皮翼類、翼手類、食肉類、食虫類、長鼻類、奇蹄類、偶蹄類、管歯類、有鱗類、海牛類、クジラ目、霊長類、齧歯類、ウサギ目など）であり得るがそれらに限定されない。さらに好ましくは、霊長類（たとえば、チンパンジー、ニホンザル、ヒト）または他のモデル動物となり得る種（例えば、奇蹄類、偶蹄類、マウスなどの齧歯類、ウサギ目など）であり得るがそれらに限定されない。本発明の方法は、生物であればどのようなものであっても適用できることが本発明において初めて解明されたことから、どのような生物であっても、対象とされ得ることが理解されるべきである。

#### 【0088】

本明細書において用いられる「植物」とは、植物界に属する生物の総称であり、クロロフィル、かたい細胞壁、豊富な永続性の胚的組織の存在、および運動する能力がない生物により特徴付けられる。代表的には、植物は、細胞壁の形成・クロロフィルによる同化作用をもつ顕花植物をいう。「植物」は、単子葉植物および双子葉植物のいずれも含む。好ましい植物としては、有用植物、例えば、コムギ、トウモロコシ、イネ、オオムギ、ソルガムなどのイネ科に属する単子葉植物が挙げられるがそれらに限定されない。好ましい植物のほかの例としては、タバコ、ピーマン、ナス、メロン、トマト、サツマイモ、キャベツ、ネギ、ブロッコリー、ニンジン、キュウリ、柑橘類、白菜、レタス、モモ、ジャガイモおよびリンゴが挙げられる。好ましい植物は作物に限られず、花、樹木、芝生、雑草なども含まれる。特に他で示さない限り、植物は、植物体、植物器官、植物組織、植物細胞、および種子のいずれをも意味する。植物器官の例としては、根、葉、茎、および花などが挙げられる。植物細胞の例としては、カルスおよび懸濁培養細胞が挙げられる。本発明の方法は、生物であればどのようなものであっても適用できることが本発明において初めて解明されたことから、どのような生物であっても、対象とされ得ることが理解されるべきである。

#### 【0089】

ある実施形態において、本発明において使用され得る植物種の例としては、ナス科、イネ科、アブラナ科、バラ科、マメ科、ウリ科、シソ科、ユリ科、アカザ科、セリ科の植物が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0090】

本明細書において「遺伝形質」とは、遺伝子型とも呼ばれ、遺伝によって支配される生物の形態的要素をいう。遺伝形質の例としては、例えば、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、他の生物、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレス、物理的ストレスなどのような環境を構成するパラメータに対する抵抗性レベルなどが挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0091】

本明細書において、「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいう。通常染

色体上に一定の順序に配列している。タンパク質の一次構造を規定するものを構造遺伝子といい、その発現を左右するものを調節遺伝子（たとえば、プロモーター）という。本明細書では、遺伝子は、特に言及しない限り、構造遺伝子および調節遺伝子を包含する。したがって、例えば、DNAポリメラーゼ遺伝子というときは、通常、DNAポリメラーゼの構造遺伝子ならびにDNAポリメラーゼのプロモーターなどの転写および／または翻訳の調節配列の両方を包含する。本発明では、構造遺伝子のほか、転写および／または翻訳などの調節配列もまた、乳房疾患の診断、治療、予防、予後などに有用であることが理解される。本明細書では、「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」ならびに／または「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を指すことがある。本明細書においてはまた、「遺伝子産物」は、遺伝子によって発現された「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」ならびに／または「タンパク質」「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を包含する。当業者であれば、遺伝子産物が何たるかはその状況に応じて理解することができる。

### 【0092】

本明細書において「遺伝子の複製」とは、遺伝物質であるDNAまたはRNAにおいて、親の核酸鎖を鋳型として、親核酸と同一の構造と機能を有する新しい核酸分子（DNAであればDNA、RNAであればRNA）を生成することをいう。真核細胞では、二本鎖DNA分子上にある多数の複製開始点に複製酵素（DNAポリメラーゼ $\alpha$ ）を含む複製開始複合体が形成されることによって複製が開始され、複製反応が複製開始点から両方向へ進行する。複製開始は、細胞周期によって制御される。酵母における自立複製配列（ARS=autonomously replicating sequence）は複製開始点とされる。大腸菌などの原核細胞では、ゲノムの二本鎖環状DNA分子に1個の複製開始点（ori）が存在し、oriに複製開始複合体が形成され、反応はoriから両方向に進行する。複製開始複合体は複製酵素（DNAポリメラーゼIII）を含む10種類以上のタンパク質因子を含む複雑な構造を有する。複製反応は、二本鎖

DNAのらせん構造の部分的巻戻しに始まり、その後短いDNAプライマーが合成され、3'-OH基から新たなDNA鎖が伸長され、相補鎖鋳型において岡崎フラグメントが合成され、岡崎フラグメントの連結、鋳型と照らし合わせる校正(プルーフリーディング)などの多段階の反応によって複製反応が進行する。

#### 【0093】

生物の遺伝情報であるゲノムDNAの複製機構は、Kornberg A. and Baker T., "DNA Replication", New York, Freeman, 1992に詳述されている。代表的には、1つの1本鎖DNAを鋳型として相補的な鎖を合成し、その結果、1つの2本鎖DNAを生じる酵素(DNA複製を行う酵素)を、DNAポリメラーゼという。DNA複製は、少なくとも2つのDNAポリメラーゼが必要である。通常、リーディング鎖およびラギング鎖の合成を同時に行わなければならないからである。DNA複製は、DNA上の決まった位置から開始されるが、その位置を複製開始点(ori)という。例えば、細菌では、通常、環状ゲノムDNAに少なくとも1つの両方向性の複製開始点を有する。これらを総合すると、通常は、1つのゲノムDNA複製には、4つのDNAポリメラーゼが同時に作用する必要があることになる。本発明では、好ましくは、リーディング鎖およびラギング鎖の一方のみの複製誤りが調節されることが有利であり得、あるいは、二本の鎖のあいだの複製誤りの頻度が異なることが有利であり得る。

#### 【0094】

本明細書において「複製誤り」とは、遺伝子(DNAなど)の複製の過程で生じるヌクレオチド取り込みの誤りをいう。複製誤りは、通常、生体では、その頻度は $10^8 \sim 10^{12}$ 回に1回程度できわめて低い。複製誤りの頻度が低い理由としては、ヌクレオチドの取り込みが鋳型DNAと取り込まれるヌクレオチドとが相補的な塩基対を形成することによって複製が起こること、DNAポリメラーゼ $\delta$ 、 $\epsilon$ などの酵素の校正機能すなわち3'→5'エキソヌクレアーゼが、鋳型に相補性を示さないヌクレオチドが誤って取り込まれたときそれを察知し直ちに切り出す機能が存在することなどが挙げられる。従って、本発明において複製におけるエラープロン頻度の調節は、特異的塩基対形成の障害、校正機能の障害

などによって行うことができる。

#### 【0095】

本明細書において遺伝形質の「変換速度」とは、生物の生殖または分裂の際に、その生物が元々持っていた遺伝形質と、生殖または分裂後の生物が持っている遺伝形質との相違点の生じる速度をいう。そのような変換速度は、分裂あたりまたは世代あたりの遺伝形質の変化の個数などで表現することができる。本明細書においては、代替的にこのような遺伝形質の変換を「進化」ということもある。

#### 【0096】

本明細書において「遺伝形質の変換速度の調節」とは、天然に存在する要因以外の人為的な操作によって、遺伝形質の変換速度を変化させることをいう。従って、遺伝形質の変換速度の調節には、遺伝形質の変換速度の遅延化および迅速化が包含される。遺伝形質の変換速度の遅延化により、その生物はほとんどその遺伝形質を変化させないことになる。従って、代替的表現を使用する場合、遺伝形質の変換速度の迅速化によりその生物は進化速度が下降する。逆に、遺伝形質の変換速度の迅速化により、その生物は、遺伝形質を通常よりも頻繁に変化させることになる。従って、代替的表現を使用する場合、遺伝形質の変換速度の迅速化によりその生物は進化速度が上昇する。

#### 【0097】

本明細書において「エラープローン」とは、遺伝子（DNAなど）の複製における誤り易い（すなわち、複製誤りの）性質をいう。エラープローンは、主に、校正機能を有する酵素（例えば、DNAポリメラーゼ $\delta$ 、 $\epsilon$ など）の校正機能の精度によって影響を受ける。

#### 【0098】

本明細書において「エラープローン頻度」とは、エラープローンの性質のレベルをいう。エラープローン頻度は、例えば、遺伝子配列における変異の絶対数（変異の数そのもの）または相対数（全長における変異の数の比率）で表現することができる。あるいは、ある生物または酵素について言及するとき、エラープローン頻度は、ある生物の生殖または分裂1回あたりの遺伝子配列における変異の絶対数または相対数で表現してもよい。

## 【0099】

本明細書において「エラープロン頻度の調節」とは、エラープロン頻度を变化させることをいう。そのようなエラープロン頻度の調節には、エラープロン頻度の上昇および低減が含まれる。エラープロン頻度の調節のための手法としては、例えば、校正機能を有するDNAポリメラーゼの改変、複製中に重合反応または伸長反応を阻害または抑制するような因子の挿入これらの反応を促進するような因子の阻害、抑制、単数または複数の塩基の欠損や重複DNA修復酵素の欠損、複製自体の精度の低減などが挙げられるがそれらに限定されない。エラープロン頻度の調節は、DNAの二本鎖の両方に対して行われてもよいし、片方のみに対して行われてもよい。好ましくは、片方のみに対して行われることが有利であり得る。有害な変異誘発が低減されるからである。

## 【0100】

本明細書において「DNAポリメラーゼ」またはPolとは、4種類のデオキシリボヌクレオシド5' - 三リン酸からピロリン酸を遊離してDNAを重合する働きを有する酵素をいう。DNAポリメラーゼ反応には、鋳型となるDNA、プライマー分子、 $Mg^{2+}$ などが必要とされる。プライマーの3' - OH末端に鋳型に相補的なヌクレオチドを順次付加し分子鎖を伸長する。

## 【0101】

大腸菌にはDNAポリメラーゼI、II、IIIの少なくとも3種類の酵素が知られている。DNAポリメラーゼIはDNA傷害の修復、遺伝的組換えおよびDNA複製に関与する。DNAポリメラーゼIIおよびIIIは補助的機能を有するといわれる。この酵素は数種のタンパク質からなるサブユニット構造をとり、その構成からコア酵素およびホロ酵素の2つに分けられる。コア酵素は、 $\alpha$ 、 $\epsilon$ および $\theta$ から構成され、ホロ酵素には、 $\alpha$ 、 $\epsilon$ および $\theta$ サブユニットのほかに、 $\tau$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ および $\beta$ の成分がある。真核生物細胞も複数のDNAポリメラーゼをもつことが知られており、高等生物ではDNAポリメラーゼ $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ および $\epsilon$ など多種類存在する。動物では、DNAポリメラーゼ $\alpha$ （核DNAの複製に関与、細胞増殖期のDNA複製に作用）、DNAポリメラーゼ $\beta$ （核でのDNAの修復に関与、増殖期、停止期のDNA傷害の修復などの作用を有する）、D

NAポリメラーゼ $\gamma$  (ミトコンドリアDNAの複製と修復に関与。エキソヌクレアーゼ活性をもつ)、DNAポリメラーゼ $\delta$  (DNAの伸長に関与。エキソヌクレアーゼ活性をもつ)、DNAポリメラーゼ $\epsilon$  (ラギング鎖のすき間の複製に関与。エキソヌクレアーゼをもつ) などが知られている。

### 【0102】

校正機能を担うのDNAポリメラーゼ (グラム陽性細菌、グラム陰性細菌、真核生物など) では、Exo Iモチーフのアミノ酸配列が3'  $\rightarrow$  5' エキソヌクレアーゼ活性中心を担うとされており、この部位が校正機能の精度に影響すると考えられている。

配列番号5: DnaQ: 8-QIVLDTETTG MN-19 (*Escherichia coli*);

配列番号6: DnaQ: 7-QIVLDTETTG MN-18 (*Haemophilus influenzae*);

配列番号7: DnaQ: 8-QIVLDTETTG MN-19 (*Salmonella typhimurium*);

配列番号8: DnaQ: 12-IVVLDTETTG MN-23 (*Vibrio cholerae*);

配列番号9: DnaQ: 3-SVVLDTETTG MP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*);

配列番号10: DnaQ: 5-QIILD TETTG LY-16 (*Neisseria meningitides*);

配列番号11: DnaQ: 9-FVCLDCETTGLD-20 (*Chlamydia trachomatis*);

配列番号12: DnaQ: 9-LAAFD TETTG VD-20 (*Streptomyces coelicolor*);

配列番号13: dnaQ: 11-QIVLD TETTG MN-22 (*Shigella flexneri* 2a str. 301);

配列番号14: PolC: 420-YVVFDVETTGLS-431 (*Staphylococcus aureus*);

- 配列番号15: Pol C: 421-YVVFDVET TGLS-432 (*Bacillus subtilis*);
- 配列番号16: Pol C: 404-YVVYDIET TGLS-415 (*Mycoplasma pulmonis*);
- 配列番号17: Pol C: 416-FVIFDIET TGLH-427 (*Mycoplasma genitalium*);
- 配列番号18: Pol C: 408-FVIFDIET TGLH-419 (*Mycoplasma pneumoniae*);
- 配列番号19: Pol III: 317-IMSFDIECAGRI-328 (*Saccharomyces cerevisiae*);
- 配列番号20: Pol II: 286-VMAFDIET TKPP-297 (*Saccharomyces cerevisiae*);
- 配列番号21: Pol delta: 310-VLSFDIECAGRK-321 (マウス);
- 配列番号22: Pol epsilon: 271-VLAFDIET TKLP-282 (マウス);
- 配列番号23: Pol delta: 312-VLSFDIECAGRK-323 (ヒト);
- 配列番号24: Pol epsilon: 271-VLAFDIET TKLP-282 (ヒト);
- 配列番号25: Pol delta: 316-ILSFDIECAGRK-327: (イネ);
- 配列番号26: Pol delta: 306-VLSFDIECAGRK-317 (シロイヌナズナ);
- 配列番号27: Pol epsilon: 235-VCAFDIET VKLP-246 (シロイヌナズナ);
- 配列番号28: Pol delta: 308-VLSFDIECAGRK-319 (ラット);
- 配列番号29: Pol delta: 311-VLSFDIECAGRK-32



2 (ウシ) ;

配列番号 30 : P o l   d e l t a : 2 7 3 - I L S F D I E C A G R K - 2 8

4 (ダイズ) ;

配列番号 31 : P o l   d e l t a : 2 9 6 - I L S F D I E C A G R K - 3 0

7 (ショウジョウバエ) ;

配列番号 32 : P o l   e p s i l o n : 2 6 9 - V L A F D I E T T K L P -

2 8 0 (ショウジョウバエ) 。

#### 【0103】

ここで明らかなように、校正機能を有するDNAポリメラーゼは、アスパラギン酸（例えば、ヒトDNAポリメラーゼδでは316番目）およびグルタミン酸（例えば、ヒトDNAポリメラーゼδでは318番目）がよく保存されている。本明細書において、このようなアスパラギン酸およびグルタミン酸を含む領域は、本明細書において校正機能活性部位ということがある。

#### 【0104】

1つの好ましい実施形態では、このような3' → 5' エキソヌクレアーゼ活性が破壊されるような変異を、DNAポリメラーゼをコードする遺伝子（DNAポリメラーゼ遺伝子）に導入することにより、校正機能が低下した（すなわち、エラープロン頻度が増加した）DNAポリメラーゼをコードする核酸分子およびポリペプチドを産生することができる。なお、校正機能の3' → 5' エキソヌクレアーゼ活性は、単一のDNAポリメラーゼ遺伝子（P o l C, P O L 2, C D C 2等）において、DNA重合活性を担う分子中に含まれる場合（例えば、真核生物、グラム陽性細菌等）と、DNA重合活性をコードする遺伝子（例えば、d n a E）とは異なる遺伝子（例えば、d n a Q）にコードされる場合（例えば、グラム陰性細菌等）があることが知られており（K o r n b e r g   A.   a n d   B a k e r   T., "DNA   R e p l i c a t i o n ", New York, F r e e m a n, 1992）、当業者は、それらの特性を理解したうえで、本発明におけるエラープロン頻度の調節を適宜行うことができる。例えば、真核生物などでは、校正機能は変化するが、DNA重合活性はほとんど変化させない変異をDNAポリメラーゼに導入することが好ましい。この場合、上述のよう

な校正機能に関与する2つの酸性アミノ酸 (Derbyshire et. al., EMBO J. 10, pp. 17-24, Jan. 1991; Fijalkowska and Schaaper, "Mutants in the Exo I motif of Escherichia coli dnaQ : Defective proofreading and inviability due to error catastrophe", Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. Vol. 93, pp. 2856-2861, Apr. 1996) を改変すること (好ましくは、保存されない置換 (例えば、アラニン、バリンなどへの置換)) が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0105】

本明細書において「校正機能」とは、細胞が受けたDNA損傷および／または誤りを検知し補修する機能をいう。そのような機能は、脱プリン、脱ピリミジンがある場合はそのまま塩基が挿入されることによるか、あるいは、A-Pエンドヌクレアーゼ (apurinic-apyrimidinic endonuclease) で一本鎖切断が入れられたのち5' → 3' エキソヌクレアーゼで除去されることによって達成され得る。除去部分は、DNAポリメラーゼでDNA合成され補充され、正常DNAとの連結はDNAリガーゼが行う。このような反応は、除去修復といわれる。アルキル化剤による化学修飾、異常塩基、放射線、紫外線などによるDNA塩基傷害などは傷害部分をDNAグリコシダーゼで取り除かれた上で上記の反応で修復される (不定期DNA合成)。そのような校正機能を有するDNAポリメラーゼとしては、例えば、真核生物におけるDNAポリメラーゼδ、DNAポリメラーゼεなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、校正機能の程度を表すために、忠実度という用語もまた用いられ得る。この忠実度との用語は、DNA複製の正確さを意味する。正常なDNAポリメラーゼは、通常、忠実度が高いDNAポリメラーゼであり、改変により校正機能が低下したDNAポリメラーゼは、忠実度が低いDNAポリメラーゼであり得る。

#### 【0106】

このようなDNAポリメラーゼの校正機能については、例えば、Kunkel, T. A. : J Biol. Chem., 260, 12866-12874 (1985); Kunkel, T. A., Sabotino, R. D. & Bambara, R. A. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 4865-4869 (1987); Wu, C. I. & Maeda, N. : Nature, 327, 167-170 (1987); Roberts, J. D. & Kunkel, T. A. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 7064-7068 (1988); Thomas, D. C., Fitzgerald, M. P. & Kunkel, T. A. : Basic Life Sciences, 52, 287-297 (1990); Trinh, T. Q. & Siden, R. R. Nature, 352, 544-547 (1991); Weston-Hafer, K., & Berg, D. E. Genetics, 127, 649-655 (1991); Veaute, X. & Fuchs, R. p. p. : Science, 261, 598-600 (1993); Roberts, J. D., Izuta, S., Thomas, D. C. & Kunkel, T. A. : J Biol Chem., 269, 1711-1717 (1994); Roche, W. A., Trinh, T. Q. & Siden, R. R. J. Bacteriol., 177, 4385-4391 (1995); Kang, S., Jaworski, A., Ohshirna, K. & Wells, Nat. Genet., 10, 213-218 (1995); Fijalkowska, I. J., Jonczyk, P., Maliszewska-Tkaczyk, M., Bialoskorska, M. & Schaaper, R. M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 10020-10025 (1998); Maliszewska-Tkaczyk, M., Jonczyk, P., Bialoskorska, M., Schaaper, R. M. & Fijalkowska, I. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 12678-12683 (2000); Gwel, D., Jonczyk, P., Bialoskorska, M., Schaaper, R. M. & Fijalkowska, I. J. : Mutation Research

, 501, 129-136 (2002). Negative; Roberts, J. D., Thomas, D. C. & Kunkel, T. A. : Proc Natl Acad Sci USA, 88, 3465-3469 (1991); Roberts, J. D., Nguyen, D. & Kunkel, T. A. : Biochemistry; 32, 4083-4089 (1993); Francino, M. P., Chac, L., Riley, M. A. & Ochman, H. : Science, 272, 107-109 (1996); A Boullet, M. Simon, G. Faye, GA Bauer & PM Burgers. EMBO J, 8, 1849-1854, (1989); Morrison A, Araki H, Clark AB, Hamatake RK, & Sugino A. Cell, 62 (6), 1143-1151, (1990)などを参照のこと。

#### 【0107】

本明細書において「DNAポリメラーゼ $\delta$ 」とは、真核生物のものをさす場合、DNAの伸長に関与する酵素であって、エキソヌクレアーゼ活性をもち、これに起因して校正機能を有するといわれる。代表的なDNAポリメラーゼ $\delta$ は、配列番号1および2（それぞれ、核酸配列およびアミノ酸配列；pol $\delta$ : X61920 gi/171411/gb/M61710.1/YSCDPB2 [171411]）を有する。このDNAポリメラーゼ $\delta$ の校正機能の調節は、配列番号2のアミノ酸配列においてアミノ酸322位に改変を導入することによって達成することができる。DNAポリメラーゼ $\delta$ は、Simon, M. et al.、EMBO J. 10, 2163-2170, 1991に記載されており、その内容は本明細書において参考として援用される。DNAポリメラーゼ $\delta$ としては、例えば、シロイヌナズナ（配列番号45）、イネ（配列番号47および48）、ダイズ（配列番号49および50）、ヒト（配列番号51および52）、マウス（配列番号55および56）、ラット（配列番号59および60）、ウシ（配列番号61および62）、ショウジョウバエ（配列番号63および64）などが挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0108】

本明細書において「DNAポリメラーゼ $\epsilon$ 」とは、真核生物のものをさす場合、ラギング鎖のすき間の複製に関与する酵素であって、エキソヌクレアーゼ活性をもち、これに起因して校正機能を有するといわれる。代表的なDNAポリメラーゼ $\epsilon$ は、配列番号3および4（それぞれ、核酸配列およびアミノ酸配列；pol $\epsilon$ : M60416 gi/171408/gb/M60416.1/YSCD NAPOL [171408]）を有する。このDNAポリメラーゼ $\epsilon$ の校正機能の調節は、配列番号4のアミノ酸配列においてアミノ酸391位に改変を導入することによって達成することができる。DNAポリメラーゼ $\epsilon$ は、Morrisson, A. et al., MGG. 242, 289-296, 1994; Araki H., et al., Nucleic Acids Res. 19, 4857-4872, 1991; Ohya T., et al., Nucleic Acids Res. 28, 3846-3852, 2000に記載されており、その内容は本明細書において参考として援用される。DNAポリメラーゼ $\epsilon$ としては、例えば、シロイヌナズナ（配列番号46）、ヒト（配列番号53および54）、マウス（配列番号57および58）、ショウジョウバエ（配列番号65および66）などが挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0109】

DNAポリメラーゼ $\delta$ および $\epsilon$ の分類は、HUGO分類によると別名はデルタがPOLD1/POL3、イプシロンがPOLE/POL2となっており、本明細書では、どの定義をも用い得る。

#### 【0110】

その他DNAポリメラーゼの説明については、例えば、Lawrence C. W. et al., J. Mol. Biol. 122, 1-21, 1978、Lawrence C. W. et al., Genetics 92, 397-408、Lawrence C. W. et al. MGG, 195, 487-490, 1984、Lawrence C. W. et al. MGG. 200, 86-91, 1985（DNAポリメラーゼ $\beta$ およびDNAポリメラーゼ $\zeta$ ）；Maher V. M. et al. Nature 261, 593-595, 1976、McGregor, W. G. et al., Mol. Cell. Biol.

19, 147-154、1999 (DNAポリメラーゼ $\eta$ ) ; Strand M. et al., Nature 365, 275-276, 1993、Prolla T. A., et al., Mol. Cell. Biol. 15, 407-415, 1994、Kat A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 6424-6428、Bhattacharyya N. P., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 6319-6323, 1994、Faber F. A., et al., Hum. Mol. Genet. 3, 253-256, 1994、Eshleman J. R., et al., Oncogene 10, 33-37, 1995、Morrison A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 9473-9477, 1991、Morrison A., et al., EMBO J. 12, 1467-1473, 1993、Fourey F., et al., EMBO J. 11, 2717-2726, 1992 (DNAポリメラーゼ $\lambda$ 、DNAポリメラーゼ $\mu$ など) などに記載されており、その内容は本明細書において参考として援用される。

#### 【0111】

本明細書においてDNAポリメラーゼなどの遺伝子および酵母などの生物の「野生型」は、もっとも広汎な定義では、天然に存在するDNAポリメラーゼなどの遺伝子および酵母などの生物を含み、通常、天然に存在するDNAポリメラーゼなどの遺伝子および酵母などの生物のうち、由来となる生物種においてもっとも広汎に存在するものをいう。従って、通常、ある種において最初に同定されるDNAポリメラーゼなどの遺伝子および酵母などの生物の種は野生型といえる。野生型はまた、「天然標準型」ともいう。そのような野生型DNAポリメラーゼは、DNAポリメラーゼ $\delta$ であれば、配列番号1および2に示す配列を有するものである。また、たとえば、DNAポリメラーゼ $\epsilon$ であれば、配列番号3および4に示す配列を有するものである。また、配列番号41~66に示す配列を有するものもまた野生型の例示として挙げられる。生物であれば、野生型は、酵素活性が正常であり得、形質が正常であり得、行動であり得、生理であり得、繁殖が正常であり得、ゲノムが正常であり得る。

## 【0112】

本明細書において校正機能が「野生型のものよりも低い」とは、ある校正機能を有する酵素などについて言及するとき、その酵素の野生型よりも校正機能が低いこと（すなわち、その酵素での校正処理の後に残留する変異の数が野生型による校正処理の後に残留する変異の数よりも多いこと）をいう。そのような野生型との比較は、相対的または絶対的な表示によって行うことができる。そのような比較はまた、エラープローン頻度などによって行うことができる。

## 【0113】

本明細書において「変異」とは、遺伝子について言及するとき、その遺伝子の配列の変化を生じることまたはその変化によって生じた遺伝子の（核酸またはアミノ酸）配列の状態をいう。本明細書では、例えば、変異は、校正機能について生じる遺伝子配列の変化について用いられる。本明細書では、特に言及しない場合は、変異は、改変と同義で用いられる。

## 【0114】

有用な変異体を作製するためには、生物において変異誘発を行うことがもっとも一般的である。変異とは、通常、遺伝子をコードする塩基配列の変化をいい、DNA配列の変化が包含される。変異は、それが発生した個体に与える影響により、大きく次の3種類に分けられる：A) 中立変異 (neutral mutation) : この変異は、ほとんどの変異が該当し、生物の成育および代謝にほとんど影響がない。B) 有害変異 (deleterious mutation) : この変異は、中立変異よりは頻度は少ない。生物の成長または代謝を阻害する。有害変異には、生育に必須な遺伝子を破壊するような致死変異 (lethal mutation) も含まれる。微生物の場合、種によっても異なるが、通常全変異に占める有害変異の割合は、約  $1/10 \sim 1/100$  とされている。C) 有益変異 (beneficial mutation) : この変異は、生物の育種に有益な変異である。その発生頻度は中立変異と比較して極めて低い。したがって、有益変異が導入された生物個体を得るためには、大きな生物集団と、長い時間が必要となる。また、生物の育種の十分な効果は、単一の変異だけで現れることはまれであり、複数の有益変異の蓄積が必要であることが多い。

## 【0115】

本明細書において「成長」とは、ある生物について言及するとき、その生物の個体としての量的増大をいう。成長は、具体的には体長（身長）、体重などの計測値の増加で個体の量的増大を認識することができる。個体の量的増大は細胞の増大および細胞数の増加に依存する。

## 【0116】

本明細書において「実質的に同じ成長」とは、生物について言及するとき、その生物が、比較対象となる生物（例えば、遺伝形質の変換前の生物）と比較して、成長速度がほとんど変化しないことをいう。そのような成長速度がほとんど変化しない範囲には、例えば、通常の成長の統計分布における1偏差分以内に入ることなどが挙げられるがそれに限定されない。また、本発明の生物では、例えば、①子供の数が変わらない；②形態は変化するが、通常的人為的突然変異と違って、障害的ではなく、変異率が極めて高いにも拘わらず、見た目が“美しい”と予想される。（成長とは直接関係しませんが、本法により創出された変異体の特徴だと思います。）；③一度獲得した形質あるいは遺伝型あるいは表現型は後もどりしないなどの効果が得られる。

## 【0117】

本明細書において「薬剤耐性」とは、薬剤（バクテリオファージ、バクテリオシンなどの生理活性物質を含む）に対する耐性または抵抗性をいう。薬剤耐性は、感受性の宿主において、薬剤のレセプターが変化したり、あるいは、薬剤が作用する種々の過程の1箇所以上が変化したときに獲得される。あるいは、感受性宿主が抗菌物質そのものを不活化する性質を獲得したときにも薬剤耐性が獲得され得る。薬剤耐性生物では、染色体DNAの変異、薬剤が作用する酵素および／またはリボソームタンパク質の性質が変わり、通常濃度の薬剤が作用しなくなる場合と、薬剤耐性プラスミド（例えば、Rプラスミド）を他の生物から獲得して、薬剤を不活化する酵素活性を獲得すること、あるいは、薬剤の膜透過性を減少させる場合などがあるがそれらに限定されない。

## 【0118】

本明細書において「がん細胞」とは、肉腫を含めた悪性腫瘍細胞と等価の意味



で用いられ、無限の増殖性を有し不死の状態を有する細胞をいう。がん細胞では、正常細胞が遺伝子レベルにおいて何らかの不可逆的変化を生じた結果、異常の細胞へと変換し、無限の増殖性を有し不死の状態に陥るといわれる。

#### 【0119】

本明細書において生物の「生産」とは、ある生物について言及するとき、その生物の個体を作り出すことをいう。

#### 【0120】

本明細書において生物の「再生産」とは、ある生物について言及するとき、親個体から次の世代の新たな個体を作り出すことをいう。再生産には、生殖、繁殖など天然現象によるもの、クローン（核移植）技術などの人工技術などによるものが包含されるがそれらに限定されない。再生産に用いられる技術としては、例えば、植物の場合、1培養細胞から個体ができる；接木、挿し木などが挙げられるがそれらに限定されない。再生産によって生産された生物は、通常、親に由来する遺伝形質を有する。有性生殖によって再生産される生物では、再生産された生物は、通常2つの性にそれぞれ由来する遺伝形質を有する。通常、そのような由来遺伝形質は、2つの性に由来するものをほぼ等しい割合で有する。無性生殖によって再生産される生物では、通常再生産された生物は、親に由来する遺伝形質を有する。

#### 【0121】

本明細書において使用される「細胞」は、当該分野において用いられる最も広義の意味と同様に定義され、多細胞生物の組織の構成単位であって、外界を隔離する膜構造に包まれ、内部に自己再生能を備え、遺伝情報およびその発現機構を有する生命体をいう。本明細書において使用される細胞は、天然に存在する細胞であっても、人工的に改変された細胞（例えば、融合細胞、遺伝子改変細胞）であってもよい。細胞の供給源としては、例えば、単一の細胞培養物であり得、あるいは、正常に成長したトランスジェニック動物の胚、血液、または体組織、または正常に成長した細胞株由来の細胞のような細胞混合物が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0122】

本発明において使用される細胞は、どの生物由来の細胞（たとえば、任意の種類単細胞生物（例えば、細菌、酵母）または多細胞生物（例えば、動物（たとえば、脊椎動物、無脊椎動物）、植物（たとえば、単子葉植物、双子葉植物など）など））でもよい。例えば、脊椎動物（たとえば、メクラウナギ類、ヤツメウナギ類、軟骨魚類、硬骨魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳動物など）由来の細胞が用いられ、より詳細には、哺乳動物（例えば、単孔類、有袋類、貧歯類、皮翼類、翼手類、食肉類、食虫類、長鼻類、奇蹄類、偶蹄類、管歯類、有鱗類、海牛類、クジラ目、霊長類、齧歯類、ウサギ目など）由来の細胞が用いられる。1つの実施形態では、霊長類（たとえば、チンパンジー、ニホンザル、ヒト）由来の細胞、特にヒト由来の細胞が用いられるがそれに限定されない。本発明において用いられる細胞は、上記細胞は、幹細胞であってもよく体細胞であってもよい。そのような細胞は、移植目的に使用されるものであってもよい。

#### 【0123】

本明細書において「幹細胞」とは、自己複製能を有し、多分化能（すなわち多能性）（「*pluripotency*」）を有する細胞をいう。幹細胞は通常、組織が傷害を受けたときにその組織を再生することができる。本明細書において使用され得る幹細胞は、胚性幹（ES）細胞または組織幹細胞（組織性幹細胞、組織特異的幹細胞または体性幹細胞ともいう）であり得るがそれらに限定されない。また、上述の能力を有している限り、人工的に作製した細胞もまた、幹細胞であり得る。胚性幹細胞とは初期胚に由来する多能性幹細胞をいう。組織幹細胞は、胚性幹細胞とは異なり、分化の方向が限定されている細胞であり、組織中の特定の位置に存在し、未分化な細胞内構造をしている。従って、組織幹細胞は多能性のレベルが低い。組織幹細胞は、核／細胞質比が高く、細胞内小器官が乏しい。組織幹細胞は、概して、多分化能を有し、細胞周期が遅く、個体の一生以上に増殖能を維持する。本明細書において使用される幹細胞は、遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節することができる限り、胚性幹細胞であっても、組織幹細胞であってもよい。

#### 【0124】

由来する部位により分類すると、組織幹細胞は、例えば、皮膚系、消化器系、

骨髄系、神経系などに分けられる。皮膚系の組織幹細胞としては、表皮幹細胞、毛嚢幹細胞などが挙げられる。消化器系の組織幹細胞としては、脾（共通）幹細胞、肝幹細胞などが挙げられる。骨髄系の組織幹細胞としては、造血幹細胞、間葉系幹細胞などが挙げられる。神経系の組織幹細胞としては、神経幹細胞、網膜幹細胞などが挙げられる。

#### 【0125】

本明細書において「体細胞」とは、卵子、精子などの生殖細胞以外の細胞であり、そのDNAを次世代に直接引き渡さない全ての細胞をいう。体細胞は通常、多能性が限定されているかまたは消失している。本明細書において使用される体細胞は、遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節することができる限り、天然に存在するものであってもよく、遺伝子改変されたものであってもよい。

#### 【0126】

細胞は、由来により、外胚葉、中胚葉および内胚葉に由来する幹細胞に分類され得る。外胚葉由来の細胞は、主に脳に存在し、神経幹細胞などが含まれる。中胚葉由来の細胞は、主に骨髄に存在し、血管幹細胞、造血幹細胞および間葉系幹細胞などが含まれる。内胚葉由来の細胞は主に臓器に存在し、肝幹細胞、脾幹細胞などが含まれる。本明細書では、遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節することができる限り、体細胞はどのような胚葉由来でもよい。

#### 【0127】

本明細書において「単離された」とは、通常環境において天然に付随する物質が少なくとも低減されていること、好ましくは実質的に含まないをいう。従って、単離された細胞とは、天然環境において付随する他の物質（たとえば、他の細胞、タンパク質、核酸など）を実質的に含まない細胞をいう。核酸またはポリペプチドについていう場合、「単離された」とは、たとえば、組換えDNA技術により作製された場合には細胞物質または培養培地を実質的に含まず、化学合成された場合には前駆体化学物質またはその他の化学物質を実質的に含まない、核酸またはポリペプチドを指す。単離された核酸は、好ましくは、その核酸が由来する生物において天然に該核酸に隣接している（flanking）配列（即ち、該核酸の5'末端および3'末端に位置する配列）を含まない。

## 【0128】

本明細書において、「樹立された」または「確立された」細胞とは、特定の性質（例えば、多分化能）を維持し、かつ、細胞が培養条件下で安定に増殖し続けるようになった状態をいう。したがって、樹立された幹細胞は、多分化能を維持する。

## 【0129】

本明細書において「分化（した）細胞」とは、機能および形態が特殊化した細胞（例えば、筋細胞、神経細胞など）をいい、幹細胞とは異なり、多能性はないか、またはほとんどない。分化した細胞としては、例えば、表皮細胞、脾実質細胞、脾管細胞、肝細胞、血液細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、骨芽細胞、骨格筋芽細胞、神経細胞、血管内皮細胞、色素細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞などが挙げられる。本明細書において使用される細胞は、遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を調節することができる限り、上記のどのような細胞であってもよい。本明細書において、「分化」または「細胞分化」とは、1個の細胞の分裂によって由来した娘細胞集団の中で形態的および／または機能的に質的な差をもった二つ以上のタイプの細胞が生じてくる現象をいう。従って、元来特別な特徴を検出できない細胞に由来する細胞集団（細胞系譜）が、特定のタンパク質の産生などはっきりした特徴を示すに至る過程も分化に包含される。

## 【0130】

本明細書において細胞、生物などの「状態」とは、細胞の種々のパラメータ（例えば、細胞周期、外来因子に対する応答、シグナル伝達、遺伝子発現、遺伝子の転写など）に関する状況をさす。そのような状態としては、例えば、分化状態、未分化状態、外来因子に対する細胞応答、細胞周期、増殖状態などが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、特に、対象となる生物の環境、例えば、温度、湿度（例えば、絶対湿度、相対湿度など）、pH、塩濃度（例えば、塩全体の濃度または特定の塩の濃度）、栄養（例えば、炭水化物量など）、金属（例えば、金属全体の量または特定の金属（例えば、重金属）の濃度など）、ガス（例えば、ガス全体の量または特定のガスの量）、有機溶媒（例えば、有機溶媒全体の量または特定の有機溶媒（例えば、エタノールなど）の量）、圧力（例

えば、局所圧または全体の圧など）、気圧、粘性、流速（例えば、培地中に生物が存在する場合のその培地の流速など）、光度（ある特定波長の光量など）、光波長（例えば、可視光のほか紫外線、赤外線なども含み得る）、電磁波、放射線、重力、張力、音波、対象となる生物とは異なる他の生物（例えば、寄生虫、病原菌など）、化学薬品（例えば、医薬品など）、抗生物質、天然物、精神的ストレス、物理的ストレスなどのようなパラメータに対する反応性または耐性を、そのような状態に関する指標として使用することができる。

#### 【0131】

本明細書においてある主体にとって「環境」とは、その主体に対するその外圍を、環境（environment、Umgebung）という。環境は、種々の構成要素、状態量が認められ、これらは環境要因といわれる、上記のようなパラメータが例示される。環境要因は、通常、非生物的環境要因と生物的環境要因とに大別され得る。非生物的環境要因（無機的環境）を物理的と化学的とに、あるいは気候的と土壌的とに区別することもある。こうした種々の環境要因の生物に対する作用は、各々が独立的して行われるとは限らず、互いに関連しあっている場合が多い。したがって、本明細書では、環境は、それぞれの要因ごとに観察してもよいし、環境要因の総体（種々のパラメータの総体）として認識されてもよい。

#### 【0132】

本明細書において「組織」（tissue）とは、多細胞生物において、実質的に同一の機能および／または形態をもつ細胞集団をいう。通常「組織」は、同じ起源を有するが、異なる起源を持つ細胞集団であっても、同一の機能および／または形態を有するのであれば、組織と呼ばれ得る。従って、本発明の幹細胞を用いて組織を再生する場合、2以上の異なる起源を有する細胞集団が一つの組織を構成し得る。通常、組織は、臓器の一部を構成する。動物の組織は、形態的、機能的または発生的根拠に基づき、上皮組織、結合組織、筋肉組織、神経組織などに区別される。植物では、構成細胞の発達段階によって分裂組織と永久組織とに大別され、また構成細胞の種類によって単一組織と複合組織とに分けるなど、いろいろな分類が行われている。本明細書において組織が対象として使用され

る場合、そのような組織としては、遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節することができる限り、上記のどのような組織であってもよい。

#### 【0133】

本発明において、臓器が対象とされる場合、そのような臓器はどのような臓器でもよく、また本発明が対象とする組織または細胞は、生物のどの臓器または器官に由来するものでもよい。本明細書において「臓器」または「器官」とは、互換可能に用いられ、生物個体のある機能が個体内の特定の部分に局在して営まれ、かつその部分が形態的に独立性をもっている構造体をいう。一般に多細胞生物（例えば、動物、植物）では器官は特定の空間的配置をもついくつかの組織からなり、組織は多数の細胞からなる。そのような臓器または器官としては、血管系に関連する臓器または器官が挙げられる。1つの実施形態では、本発明が対象とする臓器は、皮膚、血管、角膜、腎臓、心臓、肝臓、臍帯、腸、神経、肺、胎盤、脾臓、脳、四肢末梢、網膜などが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において臓器が対象として使用される場合、そのような臓器としては、遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節することができる限り、上記のどのような臓器であってもよい。

#### 【0134】

本明細書において「生産物質」とは、対象となる生物またはその一部が生産する物質をいう。そのような物質としては、代謝物、排泄物などが挙げられるがそれらに限定されない。本発明の遺伝形質の変換速度の調節によって、対象となる生物は、その生産物質の種類および／または量を変化させる。本発明はまた、そのような変化した生産物質をもその範囲として企図することが理解される。好ましくは、そのような生産物質は、代謝物であり得るがそれに限定されない。

#### 【0135】

本明細書において「病態モデル」とは、生物に言及するとき、その生物についての特定の疾患、病状、障害、状態などを再現することができる生物のモデルをいう。そのような病態モデルは、本発明の方法によって生産することができる。そのような病態モデルとしては、例えば、発癌動物、心疾患（例えば、心筋梗塞など）動物、循環器疾患（例えば、動脈硬化など）動物、中枢神経疾患（例えば

、痴呆、脳梗塞など) 動物などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0136】

(一般生化学・分子生物学)

(一般技術)

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、Sambrook J. et al. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harborおよびその3rd Ed. (2001); Ausubel, F. M. (1987). Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Ausubel, F. M. (1989). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Sambrook, J. et al. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harborおよびその3rd Ed. (2001); Innis, M. A. (1990). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press; Ausubel, F. M. (1992). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Ausubel, F. M. (1995). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub

. Associates; Innis, M. A. et al. (1995). PCR Strategies, Academic Press; Ausubel, F. M. (1999). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, and annual updates; Sninsky, J. J. et al. (1999). PCR Applications: Protocols for Functional Genomics, Academic Press、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。

#### 【0137】

人工的に合成した遺伝子を作製するためのDNA合成技術および核酸化学については、例えば、Gait, M. J. (1985). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Gait, M. J. (1990). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Eckstein, F. (1991). Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Adams, R. L. et al. (1992). The Biochemistry of the Nucleic Acids, Chapman & Hall; Shabarova, Z. et al. (1994). Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids, Weinheim; Blackburn, G. M. et al. (1996). Nucleic Acids in Chemistry and Biology, Oxford University Press; Hermanson, G. T. (1996). Bioconjugate Techniques, Academic Pressなどに記載されており、これらは本明細書において関連する部分が参考として援用される。



## 【0138】

## (用語)

本明細書において使用される用語「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然のアミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプトイド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。本発明の遺伝子産物は、通常ポリペプチド形態をとる。このようなポリペプチド形態の本発明の生産物質は、医薬組成物などとして有用であり得る。

## 【0139】

本明細書において使用される用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」を含む。「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-P5'ホスホロアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換された誘導体

オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5プロピニルウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5チアゾールウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る（Batzeraら、Nucleic Acid Res. 19:5081（1991）；Ohtsukaら、J. Biol. Chem. 260:2605-2608（1985）；Rossoliniら、Mol. Cell. Probes 8:91-98（1994））。本発明において使用されるDNAポリメラーゼなどの遺伝子は、通常、このポリヌクレオチド形態をとる。このようなポリヌクレオチド形態の本発明の遺伝子産物は、本発明の診断、予防、治療または予後のための組成物として有用である。

#### 【0140】

本明細書では「核酸分子」もまた、核酸、オリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチドと互換可能に使用され、cDNA、mRNA、ゲノムDNAなどを含む。本明細書では、核酸および核酸分子は、用語「遺伝子」の概念に含まれ得る。ある遺伝子配列をコードする核酸分子はまた、「スプライス変異体（改変体）」を包含する。同様に、核酸によりコードされた特定のタンパク質は、その核酸のスプライス改変体によりコードされる任意のタンパク質を包含する。その名が示唆するように「スプライス変異体」は、遺伝子のオルタナティブスプライシング

の産物である。転写後、最初の核酸転写物は、異なる（別の）核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようにスプライスされ得る。スプライス変異体の産生機構は変化するが、エキソンのオルタナティブスプライシングを含む。読み過し転写により同じ核酸に由来する別のポリペプチドもまた、この定義に包含される。スプライシング反応の任意の産物（組換え形態のスプライス産物を含む）がこの定義に含まれる。したがって、本明細書では、たとえば、本発明の遺伝子には、そのスプライス変異体もまた包含され得る。

#### 【0141】

本明細書において遺伝子（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。また、本明細書において配列（核酸配列、アミノ酸配列など）の同一性とは、2以上の対比可能な配列の、互いに対する同一の配列（個々の核酸、アミノ酸など）の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。本明細書において、遺伝子（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「類似性」とは、上記相同性において、保存的置換をポジティブ（同一）とみなした場合の、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、保存的置換がある場合は、その保存的置換の存在に応じて相同性と類似性とは異なる。また、保存的置換がない場合は、相同性と類似性とは同じ数値を示す。

#### 【0142】

本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるPSI-BLASTAを用い、デフォルトパラメータを用いて算出される。特に言及する場合は、PSI-BLASTAに代え

てFASTA (パラメータはデフォルト) がツールとして使用され得る。

#### 【0143】

本明細書において、「アミノ酸」は、本発明の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体アミノ酸」または「アミノ酸アナログ」とは、天然に存在するアミノ酸とは異なるがもとのアミノ酸と同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体アミノ酸およびアミノ酸アナログは、当該分野において周知である。用語「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸のL-異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、γ-カルボキシグルタミン酸、アルギニン、オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸はL体であるが、D体のアミノ酸を用いた形態もまた本発明の範囲内にある。用語「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、ノルロイシン、パラ-ニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラ-フルオロフェニルアラニン、3-アミノ-2-ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンのD体またはL体およびD-フェニルアラニンが挙げられる。「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および/または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとしては、例えば、エチオニン、カナバニン、2-メチルグルタミンなどが挙げられる。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様な様式で機能する化合物をいう。

#### 【0144】

アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。

#### 【0145】

本明細書において、「対応する」アミノ酸または核酸とは、あるポリペプチド分子またはポリヌクレオチド分子において、比較の基準となるポリペプチド分子またはポリヌクレオチドにおける所定のアミノ酸または核酸と同様の作用を有するか、または有することが予測されるアミノ酸または核酸をいい、特に酵素分子にあつては、活性部位（例えば、DNAポリメラーゼの校正機能を担う範囲など）中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸またはそれをコードする核酸をいう。例えば、アンチセンス分子であれば、そのアンチセンス分子の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり得る。このような対応するアミノ酸または核酸は、当該分野において公知のアラインメント技術を用いて同定することができる。そのようなアラインメント技術としては、例えば、Needleman, SB and Wunsch, CD, J. Mol. Biol. 48, 443-453, 1970に記載される技術が挙げられるがそれに限定されない。

#### 【0146】

本明細書において、「対応する」遺伝子とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子をいい、そのような作用を有する遺伝子が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子の対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログであり得る。したがって、マウスDNAポリメラーゼ遺伝子に対応する遺伝子は、他の動物（ヒト、ラット、ブタ、ウシなど）においても見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。したがって、例えば、ある動物における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺伝子（例えば、マウス本発明の遺伝子）の配列をクエリ配列として用いてその動物（例えばヒト、ラット）の配列データベースを検索することによって見出すことができる。

#### 【0147】

本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体ヌクレオチド」または「ヌクレオチドアナログ」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをい

う。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-Ο-メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸 (PNA) が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0148】

本明細書において「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド (長さが  $n$ ) に対して、 $1 \sim n-1$  までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ (例えば、11 など) もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100 およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ (例えば、11 など) もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの長さは、上述のようにそれぞれアミノ酸または核酸の個数で表すことができるが、上述の個数は絶対的なものではなく、同じ機能を有する限り、上限または加減としての上述の個数は、その個数の上下数個 (または例えば上下 10%) のものも含むことが意図される。そのような意図を表現するために、本明細書では、個数の前に「約」を付けて表現することがある。しかし、本明細書では、「約」のあるなしはその数値の解釈に影響を与えないことが理解されるべきである。本明細書において有用なフラグメントの長さは、そのフラグメントの基準となる全長タンパク質の機能のうち少なくとも 1 つの機能が保持されているかどうかによって決定され得る。

#### 【0149】

本明細書においてポリヌクレオチドまたはポリペプチドなどの生物学的因子に対して「特異的に相互作用する因子」とは、そのポリヌクレオチドまたはそのポ

リペプチドなどの生物学的因子に対する親和性が、他の無関連の（特に、同一性が30%未満の）ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに対する親和性よりも、代表的には同等またはより高いか、好ましくは有意に（例えば、統計学的に有意に）高いものをいう。そのような親和性は、例えば、ハイブリダイゼーションアッセイ、結合アッセイなどによって測定することができる。本明細書において「因子」としては、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、光、放射能、熱、電気などのエネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子が挙げられるがそれらに限定されない。ポリヌクレオチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリヌクレオチドの配列に対して一定の配列相同性を（例えば、70%以上の配列同一性）もって相補性を有するポリヌクレオチド、プロモーター領域に結合する転写因子のようなポリペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。ポリペプチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリペプチドに対して特異的に指向された抗体またはその誘導体あるいはその類似物（例えば、単鎖抗体）、そのポリペプチドがレセプターまたはリガンドである場合の特異的なリガンドまたはレセプター、そのポリペプチドが酵素である場合、その基質などが挙げられるがそれらに限定されない。このような因子は、本明細書において、生物中のエラープロン頻度を調節するために有用であり得る。

#### 【0150】

本明細書において「有機低分子」とは、有機分子であって、比較的分子量が小さなものをいう。通常有機低分子は、分子量が約1000以下のものをいうが、それ以上のものであってもよい。有機低分子は、通常当該分野において公知の方法を用いるかそれらを組み合わせて合成することができる。そのような有機低分

子は、生物に生産させてもよい。有機低分子としては、例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）などが挙げられるがそれらに限定されない。このような分子は、本明細書において、生物中のエラープローン頻度を調節するために有用であり得る。

#### 【0151】

本明細書において用いられる用語「抗体」は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、および抗イディオタイプ抗体、ならびにそれらの断片、例えばF(a b')<sub>2</sub>およびF a b断片、ならびにその他の組換えにより生産された結合体を含む。さらにこのような抗体を、酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 $\alpha$ ガラクトシダーゼなど、に共有結合させまたは組換えにより融合させてよい。

#### 【0152】

本明細書において「抗原」(antigen)とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」(immunogen)とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

#### 【0153】

本明細書において「単鎖抗体」とは、F<sub>v</sub>領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じたものをいう。

#### 【0154】

本明細書において「複合分子」とは、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、低分子などの分子が複数種連結してできた分子をいう。そのような複合分子としては、例えば、糖脂質、糖ペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、例えば、DNAポリメラーゼのような遺伝子またはその産物あるいは本発明の因子と同様の機能を有する限り、それぞれDNAポリメラーゼのような遺伝子またはその産物あるいは本発明の因子としてそのような複合分



子も使用することができる。

#### 【0155】

本明細書において「単離された」生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その生物学的因子が天然に存在する生物体の細胞内の他の生物学的因子（例えば、核酸である場合、核酸以外の因子および目的とする核酸以外の核酸配列を含む核酸；タンパク質である場合、タンパク質以外の因子および目的とするタンパク質以外のアミノ酸配列を含むタンパク質など）から実質的に分離または精製されたものをいう。「単離された」核酸およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。したがって、単離された核酸およびタンパク質は、化学的に合成した核酸およびタンパク質を包含する。

#### 【0156】

本明細書において「精製された」生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その生物学的因子に天然に随伴する因子の少なくとも一部が除去されたものをいう。したがって、通常、精製された生物学的因子におけるその生物学的因子の純度は、その生物学的因子が通常存在する状態よりも高い（すなわち濃縮されている）。

#### 【0157】

本明細書中で使用される用語「精製された」および「単離された」は、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。

#### 【0158】

本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど遺伝子産物の「発現」とは、その遺伝子などがインビボで一定の作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレオチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製されることもまた発現の一形態であり得る。より好ましくは、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。

## 【0159】

従って、本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「減少」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に減少することをいう。好ましくは、発現の減少は、ポリペプチド（例えば、DNAポリメラーゼ）の発現量の減少を含む。本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「増加」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に増加することをいう。好ましくは、発現の増加は、ポリペプチド（例えば、DNAポリメラーゼ）の発現量の増加を含む。本明細書において遺伝子の「発現」の「誘導」とは、ある細胞にある因子を作用させてその遺伝子の発現量を増加させることをいう。したがって、発現の誘導は、まったくその遺伝子の発現が見られなかった場合にその遺伝子が発現するようにすること、およびすでにその遺伝子の発現が見られていた場合にその遺伝子の発現が増大することを包含する。このような遺伝子または遺伝子産物（ポリペプチドまたはポリヌクレオチド）の発現の増加または減少は、本発明の治療形態、予後形態または予防形態において有用であり得る。

## 【0160】

本明細書において、遺伝子が「特異的に発現する」とは、その遺伝子が、植物の特定の部位または時期において他の部位または時期とは異なる（好ましくは高い）レベルで発現されることをいう。特異的に発現するとは、ある部位（特異的部位）にのみ発現してもよく、それ以外の部位においても発現していてもよい。好ましくは特異的に発現するとは、ある部位においてのみ発現することをいう。したがって、本発明において、ある実施形態では、罹患した箇所にも局所的にDNAポリメラーゼを特異的に発現させてもよい。

## 【0161】

本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリヌクレオチド、タンパク質など）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能（例えば、転写促進活性）を発揮する活性が包含される。例えば、2つの因子が相互作用する（例えば、DNAポリメラーゼとその特異的配列とが結合する）

場合、その生物学的活性は、DNAポリメラーゼとその特異的配列との間の結合およびそれによって生じる生物学的変化、例えば、特定のヌクレオチド重合反応；複製エラーの発生；ヌクレオチド除去能；塩基のミスペアリング認識など）などを包含する。例えば、ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。そのような生物学的活性は、当該分野において周知の技術によって測定することができる。

#### 【0162】

本明細書において「アンチセンス（活性）」とは、標的遺伝子の発現を特異的に抑制または低減することができる活性をいう。アンチセンス活性は、通常、目的とする遺伝子（例えば、DNAポリメラーゼなど）の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列によって達成される。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましく10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。そのような核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、もっとも好ましくは95%相同な核酸配列が含まれる。そのようなアンチセンス活性は、目的とする遺伝子の核酸配列の5'末端の配列に対して相補的であることが好ましい。そのようなアンチセンスの核酸配列には、上述の配列に対して、1つまたは数個あるいは1つ以上のヌクレオチドの置換、付加および／または欠失を有するものもまた含まれる。このようなアンチセンス活性を有する分子は、本明細書において、生物中のエラープロン頻度を調節するために有用であり得る。

#### 【0163】

本明細書において「RNAi」とは、RNA interferenceの略

称で、二本鎖RNA (dsRNAともいう) のようなRNA iを引き起こす因子を細胞に導入することにより、相同なmRNAが特異的に分解され、遺伝子産物の合成が抑制される現象およびそれに用いられる技術をいう。本明細書においてRNA iはまた、場合によっては、RNA iを引き起こす因子と同義に用いられ得る。

#### 【0164】

本明細書において「RNA iを引き起こす因子」とは、RNA iを引き起こすことができるような任意の因子をいう。本明細書において「遺伝子」に対して「RNA iを引き起こす因子」とは、その遺伝子に関するRNA iを引き起こし、RNA iがもたらす効果（例えば、その遺伝子の発現抑制など）が達成されることをいう。そのようなRNA iを引き起こす因子としては、例えば、標的遺伝子の核酸配列の一部に対して少なくとも約70%の相同性を有する配列またはストリンジントな条件下でハイブリダイズする配列を含む、少なくとも10ヌクレオチド長の二本鎖部分を含むRNAまたはその改変体が挙げられるがそれに限定されない。ここで、この因子は、好ましくは、3' 突出末端を含み、より好ましくは、3' 突出末端は、2ヌクレオチド長以上のDNA（例えば、2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。このようなRNA iは、本明細書において、生物中のエラープローン頻度を調節するために有用であり得る。

#### 【0165】

本明細書において、「ストリンジントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブランク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニーあるいはブランク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液（1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである）を用い、6

5℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) 等の実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、本発明で具体的に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。

#### 【0166】

本明細書において「高度にストリンジェントな条件」は、核酸配列において高度の相補性を有するDNA鎖のハイブリダイゼーションを可能にし、そしてミスマッチを有意に有するDNAのハイブリダイゼーションを除外するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、主に、温度、イオン強度、およびホルムアミドのような変性剤の条件によって決定される。このようなハイブリダイゼーションおよび洗浄に関する「高度にストリンジェントな条件」の例は、0.0015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、65~68℃、または0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および50% ホルムアミド、42℃である。このような高度にストリンジェントな条件については、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laborat

ory (Cold Spring Harbor, N, Y. 1989) ; および Anderson et al.、Nucleic Acid Hybridization: a Practical approach、IV、IRL Press Limited (Oxford, England) . Limited , Oxford, Englandを参照のこと。必要により、よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミド、または他の変性剤）を、使用してもよい。他の薬剤が、非特異的なハイブリダイゼーションおよび／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少する目的で、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液に含まれ得る。そのような他の薬剤の例としては、0.1%ウシ血清アルブミン、0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム（NaDodSO<sub>4</sub>またはSDS）、Ficoll、Denhardt溶液、超音波処理されたサケ精子DNA（または別の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた、使用され得る。これらの添加物の濃度および型は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は、通常、pH6.8～7.4で実施されるが；代表的なイオン強度条件において、ハイブリダイゼーションの速度は、ほとんどpH独立である。Anderson et al.、Nucleic Acid Hybridization: a Practical Approach、第4章、IRL Press Limited (Oxford, England) を参照のこと。

### 【0167】

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基の組成、長さおよび塩基対不一致の程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、当業者によって調整され得、これらの変数を適用させ、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にする。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の式によって概算され得る。

$$T_m (^\circ\text{C}) = 81.5 + 16.6 (\log [\text{Na}^+]) + 0.41 (\% \text{G+C}) - 600 / N - 0.72 (\% \text{ホルムアミド})$$

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[Na^+]$  は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中のナトリウムイオンのモル濃度であり、%G+Cは、ハイブリッド中の（グアニン+シトシン）塩基のパーセンテージである。不完全に一致したハイブリッドに関して、融解温度は、各1%不一致（ミスマッチ）に対して約1℃ずつ減少する。

#### 【0168】

本明細書において「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が、形成し得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例は、0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、50～65℃、または0.015M 塩化ナトリウム、0.0015M クエン酸ナトリウム、および20%ホルムアミド、37～50℃である。例として、0.015M ナトリウムイオン中、50℃の「中程度にストリンジェントな」条件は、約21%の不一致を許容する。

#### 【0169】

本明細書において「高度」にストリンジェントな条件と「中程度」にストリンジェントな条件との間に完全な区別は存在しないことがあり得ることが、当業者によって理解される。例えば、0.015M ナトリウムイオン（ホルムアミドなし）において、完全に一致した長いDNAの融解温度は、約71℃である。65℃（同じイオン強度）での洗浄において、これは、約6%不一致を許容にする。より離れた関連する配列を捕獲するために、当業者は、単に温度を低下させ得るか、またはイオン強度を上昇し得る。

#### 【0170】

約20ntまでのオリゴヌクレオチドプローブについて、1M NaClにおける融解温度の適切な概算は、

$$T_m = (1 \text{つのA-T塩基につき } 2^\circ\text{C}) + (1 \text{つのG-C塩基対につき } 4^\circ\text{C})$$
によって提供される。なお、6×クエン酸ナトリウム塩（SSC）におけるナトリウムイオン濃度は、1Mである（Suggsら、Developmental Biology Using Purified Genes、683頁、B

rownおよびFox (編) (1981)を参照のこと)。

### 【0171】

DNAポリメラーゼタンパク質をコードする天然の核酸は、例えば、配列番号1、3、41、43、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65などに示される核酸配列の一部を含むPCRプライマーおよびハイブリダイゼーションプローブを有するcDNAライブラリーから容易に分離される。好ましいDNAポリメラーゼの核酸は、本質的に1%ウシ血清アルブミン(BSA); 500mM リン酸ナトリウム( $\text{NaPO}_4$ ); 1mM EDTA; 42℃の温度で7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に2×SSC (600mM NaCl; 60mM クエン酸ナトリウム); 50℃の0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、さらに好ましくは本質的に50℃の温度での1%ウシ血清アルブミン(BSA); 500mM リン酸ナトリウム( $\text{NaPO}_4$ ); 15%ホルムアミド; 1mM EDTA; 7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に50℃の1×SSC (300mM NaCl; 30mM クエン酸ナトリウム); 1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、最も好ましくは本質的に50℃の温度での1%ウシ血清アルブミン(BSA); 200mM リン酸ナトリウム( $\text{NaPO}_4$ ); 15%ホルムアミド; 1mM EDTA; 7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に65℃の0.5×SSC (150mM NaCl; 15mM クエン酸ナトリウム); 0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下に配列番号配列番号1、3、41、43、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65などに示す配列の1つまたはその一部とハイブリダイズし得る。

### 【0172】

本明細書において「プローブ」とは、インビトロおよび/またはインビボなどのスクリーニングなどの生物学的実験において用いられる、検索の対象となる物質をいい、例えば、特定の塩基配列を含む核酸分子または特定のアミノ酸配列を含むペプチドなどが挙げられるがそれに限定されない。



## 【0173】

通常プローブとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相同なまたは相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、95%相同な核酸配列が含まれる。

## 【0174】

本明細書において、「検索」とは、電子的にまたは生物学的あるいは他の方法により、ある核酸塩基配列を利用して、特定の機能および／または性質を有する他の核酸塩基配列を見出すことをいう。電子的な検索としては、BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990))、FASTA (Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:2444-2448 (1988))、Smith and Waterman法 (Smith and Waterman, J. Mol. Biol. 147:195-197 (1981))、およびNeedleman and Wunsch法 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970))などが挙げられるがそれらに限定されない。生物学的な検索としては、ストリンジェントハイブリダイゼーション、ゲノムDNAをナイロンメンブレン等に貼り付けたマクロアレイまたはガラス板に貼り付けたマイクロアレイ (マイクロアレイアッセイ)、PCRおよび in situハイブリダイゼーションなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において、本発明において使

用されるDNAポリメラーゼ（例えば、校正機能を有するDNAポリメラーゼ）には、このような電子的検索、生物学的検索によって同定された対応遺伝子も含まれるべきであることが意図される。

### 【0175】

本明細書において配列（アミノ酸または核酸など）の「同一性」、「相同性」および「類似性」のパーセンテージは、比較ウィンドウで最適な状態に整列された配列2つを比較することによって求められる。ここで、ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列の比較ウィンドウ内の部分には、2つの配列の最適なアライメントについての基準配列（他の配列に付加が含まれていればギャップが生じることもあるが、ここでの基準配列は付加も欠失もないものとする）と比較したときに、付加または欠失（すなわちギャップ）が含まれる場合がある。同一の核酸塩基またはアミノ酸残基がどちらの配列にも認められる位置の数を求めることによって、マッチ位置の数を求め、マッチ位置の数を比較ウィンドウ内の総位置数で割り、得られた結果に100を掛けて同一性のパーセンテージを算出する。検索において使用される場合、相同性については、従来技術において周知のさまざまな配列比較アルゴリズムおよびプログラムの中から、適当なものを用いて評価する。このようなアルゴリズムおよびプログラムとしては、TBLASTN、BLASTP、FASTA、TFASTAおよびCLUSTALW（Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (8) : 2444-2448、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Thompson et al., 1994, Nucleic Acids Res. 22 (2) : 4673-4680、Higgins et al., 1996, Methods Enzymol. 266 : 383-402、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3 : 266-272）があげられるが、何らこれに限定されるものではない。特に好ましい実施形態では、従来技術において周知のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST)（たと

えば、Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2267-2268、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3:266-272、Altschul et al., 1997, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402を参照のこと)を用いてタンパク質および核酸配列の相同性を評価する。特に、5つの専用BLASTプログラムを用いて以下の作業を実施することによって比較または検索が達成され得る。

#### 【0176】

- (1) BLASTPおよびBLAST3でアミノ酸のクエリー配列をタンパク質配列データベースと比較;
- (2) BLASTNでヌクレオチドのクエリー配列をヌクレオチド配列データベースと比較;
- (3) BLASTXでヌクレオチドのクエリー配列(両方の鎖)を6つの読み枠で変換した概念的翻訳産物をタンパク質配列データベースと比較;
- (4) TBLASTNでタンパク質のクエリー配列を6つの読み枠(両方の鎖)すべてで変換したヌクレオチド配列データベースと比較;
- (5) TBLASTXでヌクレオチドのクエリー配列を6つの読み枠で変換したものを、6つの読み枠で変換したヌクレオチド配列データベースと比較。

#### 【0177】

BLASTプログラムは、アミノ酸のクエリー配列または核酸のクエリー配列と、好ましくはタンパク質配列データベースまたは核酸配列データベースから得られた被検配列との間で、「ハイスコアセグメント対」と呼ばれる類似のセグメントを特定することによって相同配列を同定するものである。ハイスコアセグメント対は、多くのものが従来技術において周知のスコアリングマトリックスによって同定(すなわち整列化)されると好ましい。好ましくは、スコアリングマトリックスとしてBLOSUM62マトリックス(Gonnet et al., 1992, Science 256:1443-1445、Henikoff and Henikoff, 1993, Proteins 17:49-61)を使

用する。このマトリックスほど好ましいものではないが、PAMまたはPAM250マトリックスも使用できる（たとえば、Schwartz and Dayhoff, eds., 1978, *Matrices for Detecting Distance Relationships: Atlas of Protein Sequence and Structure*, Washington: National Biomedical Research Foundationを参照のこと）。BLASTプログラムは、同定されたすべてのハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価し、好ましくはユーザー固有の相対率などのユーザーが独自に定める有意性の閾値レベルを満たすセグメントを選択する。統計的な有意性を求めるKarlinの式を用いてハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価すると好ましい（Karlin and Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 2267-2268参照のこと）。

#### 【0178】

本明細書における「プライマー」とは、高分子合成酵素反応において、合成される高分子化合物の反応の開始に必要な物質をいう。核酸分子の合成反応では、合成されるべき高分子化合物の一部の配列に相補的な核酸分子（例えば、DNAまたはRNAなど）が用いられ得る。

#### 【0179】

通常プライマーとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、16の連続するヌクレオチド長の、17の連続するヌクレオチド長の、18の連続するヌクレオチド長の、19の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続

するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、95%相同な核酸配列が含まれる。プライマーとして適切な配列は、合成（増幅）が意図される配列の性質によって変動し得るが、当業者は、意図される配列に応じて適宜プライマーを設計することができる。そのようなプライマーの設計は当該分野において周知であり、手動でおこなってもよくコンピュータプログラム（例えば、LASER GENE, Primer Select, DNASTarなど）を用いて行ってもよい。

### 【0180】

本明細書において、「エピトープ」とは、構造の明らかな抗原決定基をいう。従って、エピトープには特定の免疫グロブリンによる認識に関与するアミノ酸残基のセット、または、T細胞の場合は、T細胞レセプタータンパク質および／もしくは主要組織適合性複合体（MHC）レセプターによる認識について必要であるアミノ酸残基のセットが含まれる。この用語はまた、「抗原決定基」または「抗原決定部位」と交換可能に使用される。免疫系分野において、インビボまたはインビトロで、エピトープは、分子の特徴（例えば、一次ペプチド構造、二次ペプチド構造または三次ペプチド構造および電荷）であり、免疫グロブリン、T細胞レセプターまたはHLA分子によって認識される部位を形成する。ペプチドを含むエピトープは、エピトープに独特な空間的コンフォメーション中に3つ以上のアミノ酸を含み得る。一般に、エピトープは、少なくとも5つのこのようなアミノ酸からなり、代表的には少なくとも6つ、7つ、8つ、9つ、または10のこのようなアミノ酸からなる。エピトープの長さは、より長いほど、もとのペプチドの抗原性に類似することから一般的に好ましいが、コンフォメーションを考慮すると、必ずしもそうでないことがある。アミノ酸の空間的コンフォメーションを決定する方法は、当該分野で公知であり、例えば、X線結晶学、および2次元核磁気共鳴分光法を含む。さらに、所定のタンパク質におけるエピトープの同定は、当該分野で周知の技術を使用して容易に達成される。例えば、Geysenら（1984）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3

998 (所定の抗原における免疫原性エピトープの位置を決定するために迅速にペプチドを合成する一般的な方法) ; 米国特許第 4,708,871 号 (抗原のエピトープを同定し、そして化学的に合成するための手順) ; および Geysen ら (1986) *Molecular Immunology* 23:709 (所定の抗体に対して高い親和性を有するペプチドを同定するための技術) を参照されたい。同じエピトープを認識する抗体は、単純な免疫アッセイにおいて同定され得る。このように、ペプチドを含むエピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。

#### 【0181】

従って、ペプチドを含むエピトープとして使用するためには、少なくとも 3 アミノ酸の長さの配列が必要であり、好ましくは、この配列は、少なくとも 4 アミノ酸、より好ましくは 5 アミノ酸、6 アミノ酸、7 アミノ酸、8 アミノ酸、9 アミノ酸、10 アミノ酸、15 アミノ酸、20 アミノ酸、25 アミノ酸の長さの配列が必要であり得る。エピトープは線状であってもコンフォメーション形態であってもよい。

#### 【0182】

##### (遺伝子の改変)

あるタンパク質分子 (例えば、DNA ポリメラーゼ) において、配列に含まれるあるアミノ酸は、相互作用結合能力の明らかな低下または消失なしに、例えば、カチオン性領域または基質分子の結合部位のようなタンパク質構造において他のアミノ酸に置換され得る。あるタンパク質の生物学的機能を規定するのは、タンパク質の相互作用能力および性質である。従って、特定のアミノ酸の置換がアミノ酸配列において、またはその DNA コード配列のレベルにおいて行われ得、置換後もなお、もとの性質を維持するタンパク質が生じ得る。従って、生物学的有用性の明らかな損失なしに、種々の改変が、本明細書において開示されたペプチドまたはこのペプチドをコードする対応する DNA において行われ得る。あるいは、校正機能に改変が加えられるように、DNA ポリメラーゼをコードする核

酸配列に改変が施され得る。

### 【0183】

上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮され得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている (Kyte, J および Doolittle, R. F. J. Mol. Biol. 157 (1) : 105-132, 1982)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子 (例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など) との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは: イソロイシン (+4.5); バリン (+4.2); ロイシン (+3.8); フェニルアラニン (+2.8); システイン/シスチン (+2.5); メチオニン (+1.9); アラニン (+1.8); グリシン (-0.4); スレオニン (-0.7); セリン (-0.8); トリプトファン (-0.9); チロシン (-1.3); プロリン (-1.6); ヒスチジン (-3.2); グルタミン酸 (-3.5); グルタミン (-3.5); アスパラギン酸 (-3.5); アスパラギン (-3.5); リジン (-3.9); およびアルギニン (-4.5) である。

### 【0184】

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質 (例えば、酵素活性において等価なタンパク質) を生じさせ得ることが当該分野で周知である。このようなアミノ酸置換において、疎水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0.5以内であることがさらに好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。米国特許第4,554,101号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている: アルギニン (+3.0); リジン (+3.0); アスパラギン酸 (+3.0±1); グルタミン酸 (+3.0±1); セリン (+0.3); アスパラギン (+0.2); グルタミン (+0.2); グリシン (0); スレオニン (-0.4); プロリン (-0.5±1)

); アラニン (-0.5); ヒスチジン (-0.5); システイン (-1.0);  
メチオニン (-1.3); バリン (-1.5); ロイシン (-1.8); イソ  
ロイシン (-1.8); チロシン (-2.3); フェニルアラニン (-2.5)  
; およびトリプトファン (-3.4)。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ  
依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される  
。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が±2以内であることが好まし  
く、±1以内であることがより好ましく、および±0.5以内であることがさら  
により好ましい。

#### 【0185】

本明細書において、「保存的置換」とは、アミノ酸置換において、元のアミノ  
酸と置換されるアミノ酸との親水性指数または／および疎水性指数が上記のよう  
に類似している置換をいう。保存的置換の例としては、例えば、親水性指数また  
は疎水性指数が、±2以内のもの同士、好ましくは±1以内のもの同士、より好  
ましくは±0.5以内のもの同士のものが挙げられるがそれらに限定されない。  
従って、保存的置換の例は、当業者に周知であり、例えば、次の各グループ内での  
置換：アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリン  
およびスレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシン  
、およびイソロイシン、などが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0186】

本明細書において、「改変体」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオ  
チドなどの物質に対して、一部が変更されているものをいう。そのような改変体  
としては、置換改変体、付加改変体、欠失改変体、短縮 (truncated)  
改変体、対立遺伝子変異体などが挙げられる。そのような改変体としては、基準  
となる核酸分子またはポリペプチドに対して、1または数個の置換、付加および  
／または欠失、あるいは1つ以上の置換、付加および／または欠失を含むものが  
挙げられるがそれらに限定されない。そのような改変体は、基準となる分子 (例  
えば、野生型分子) の生物学的活性を有していてもよく、有していなくてもよい  
。目的に応じて、あらたな生物学的活性が付与されてもよく、一部の生物学的活  
性が欠失させられてもよい。そのような設計は、当該分野において周知の技術を



用いることによって実施することができる。あるいは、すでに性質が明らかな改変体を産生する生物から単離またはPCRなどによって核酸配列を増幅してその配列情報を入手してもよい。

#### 【0187】

本明細書において「対立遺伝子 (allele)」とは、同一遺伝子座に属し、互いに区別される遺伝的改変体のことをいう。従って、「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子に対して、対立遺伝子の関係にある改変体をいう。そのような対立遺伝子変異体は、通常その対応する対立遺伝子と同一または非常に類似性の高い配列を有し、通常はほぼ同一の生物学的活性を有するが、まれに異なる生物学的活性を有することもある。「種相同体またはホモログ (homolog)」とは、ある種の中で、ある遺伝子とアミノ酸レベルまたはヌクレオチドレベルで、相同性（好ましくは、60%以上の相同性、より好ましくは、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上の相同性）を有するものをいう。そのような種相同体を取得する方法は、本明細書の記載から明らかである。「オルソログ (ortholog)」とは、オルソログス遺伝子 (orthologous gene) ともいい、二つの遺伝子がある共通祖先からの種分化に由来する遺伝子をいう。例えば、多重遺伝子構造をもつヘモグロビン遺伝子ファミリーを例にとると、ヒトおよびマウスの $\alpha$ ヘモグロビン遺伝子はオルソログであるが、ヒトの $\alpha$ ヘモグロビン遺伝子および $\beta$ ヘモグロビン遺伝子はパラログ（遺伝子重複で生じた遺伝子）である。オルソログは、分子系統樹の推定に有用である。オルソログは、通常別の種において、もとの種と同様の機能を果たしていることがあり得ることから、本発明のオルソログもまた、本発明において有用であり得る。

#### 【0188】

本明細書において「保存的（に改変された）改変体」は、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体とは、同一のまたは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいい、核酸がアミノ酸配列をコードしない場合には、本質的に同一な配列をいう。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一な核酸が任意の所定のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCG、およびGCUはすべて、ア

ミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンにより特定される全ての位置で、そのコドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンの任意のものに変更され得る。このような核酸の変動は、保存的に改変された変異の1つの種である「サイレント改変(変異)」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての核酸配列はまた、その核酸の可能なすべてのサイレント変異を記載する。当該分野において、核酸中の各コドン(通常メチオニンのための唯一のコドンであるAUG、および通常トリプトファンのための唯一のコドンであるTGGを除く)が、機能的に同一な分子を産生するために改変され得ることが理解される。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列において暗黙に含まれる。好ましくは、そのような改変は、ポリペプチドの高次構造に多大な影響を与えるアミノ酸であるシステインの置換を回避するようになされ得る。このような塩基配列の改変法としては、制限酵素などによる切断、DNAポリメラーゼ、Klenowフラグメント、DNAリガーゼなどによる処理等による連結等の処理、合成オリゴヌクレオチドなどを用いた部位特異的塩基置換法(特定部位指向突然変異法; Mark Zoller and Michael Smith, *Methods in Enzymology*, 100, 468-500 (1983))が挙げられるが、この他にも通常分子生物学の分野で用いられる方法によって改変を行うこともできる。

#### 【0189】

本明細書中において、機能的に等価なポリペプチドを作製するために、アミノ酸の置換のほかに、アミノ酸の付加、欠失、または修飾もまた行うことができる。アミノ酸の置換とは、もとのペプチドを1つ以上、例えば、1~10個、好ましくは1~5個、より好ましくは1~3個のアミノ酸で置換することをいう。アミノ酸の付加とは、もとのペプチド鎖に1つ以上、例えば、1~10個、好ましくは1~5個、より好ましくは1~3個のアミノ酸を付加することをいう。アミノ酸の欠失とは、もとのペプチドから1つ以上、例えば、1~10個、好ましくは1~5個、より好ましくは1~3個のアミノ酸を欠失させることをいう。アミノ酸修飾は、アミド化、カルボキシル化、硫酸化、ハロゲン化、アルキル化、グ

リコシル化、リン酸化、水酸化、アシル化（例えば、アセチル化）などを含むが、これらに限定されない。置換、または付加されるアミノ酸は、天然のアミノ酸であってもよく、非天然のアミノ酸、またはアミノ酸アナログでもよい。天然のアミノ酸が好ましい。

#### 【0190】

本明細書において使用される用語「ペプチドアナログ」または「ペプチド誘導体」とは、ペプチドとは異なる化合物であるが、ペプチドと少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、ペプチドアナログには、もとのペプチドに対して、1つ以上のアミノ酸アナログまたはアミノ酸誘導体が付加または置換されているものが含まれる。ペプチドアナログは、その機能が、もとのペプチドの機能（例えば、 $pK_a$  値が類似していること、官能基が類似していること、他の分子との結合様式が類似していること、水溶性が類似していることなど）と実質的に同様であるように、このような付加または置換がされている。そのようなペプチドアナログは、当該分野において周知の技術を用いて作製することができる。したがって、ペプチドアナログは、アミノ酸アナログを含むポリマーであり得る。

#### 【0191】

同様に、「ポリヌクレオチドアナログ」、「核酸アナログ」は、ポリヌクレオチドまたは核酸とは異なる化合物であるが、ポリヌクレオチドまたは核酸と少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、ポリヌクレオチドアナログまたは核酸アナログには、もとのペプチドに対して、1つ以上のヌクレオチドアナログまたはヌクレオチド誘導体が付加または置換されているものが含まれる。

#### 【0192】

本明細書において使用される核酸分子は、発現されるポリペプチドが天然型のポリペプチドと実質的に同一の活性を有する限り、上述のようにその核酸の配列の一部が欠失または他の塩基により置換されていてもよく、あるいは他の核酸配列が一部挿入されていてもよい。あるいは、5' 末端および／または3' 末端に他の核酸が結合していてもよい。また、ポリペプチドをコードする遺伝子をスト

リンジェントな条件下でハイブリダイズし、そのポリペプチドと実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードする核酸分子でもよい。このような遺伝子は、当該分野において公知であり、本発明において利用することができる。

#### 【0193】

このような核酸は、周知のPCR法により得ることができ、化学的に合成することもできる。これらの方法に、例えば、部位特異的変位誘発法、ハイブリダイゼーション法などを組み合わせてもよい。

#### 【0194】

本明細書において、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの「置換、付加または欠失」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して、それぞれアミノ酸もしくはその代替物、またはヌクレオチドもしくはその代替物が、置き換わること、付け加わることまたは取り除かれることをいう。このような置換、付加または欠失の技術は、当該分野において周知であり、そのような技術の例としては、部位特異的変異誘発技術などが挙げられる。置換、付加または欠失は、1つ以上であれば任意の数でよく、そのような数は、その置換、付加または欠失を有する改変体において目的とする機能（例えば、ホルモン、サイトカインの情報伝達機能など）が保持される限り、多くすることができる。例えば、そのような数は、1または数個であり得、そして好ましくは、全体の長さの20%以内、10%以内、または100個以下、50個以下、25個以下などであり得る。

#### 【0195】

(遺伝子工学)

本発明において用いられるDNAポリメラーゼならびにそのフラグメントおよび改変体は、遺伝子工学技術を用いて生産することができる。

#### 【0196】

本明細書において遺伝子について言及する場合、「ベクター」または「組み換えベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるベクターをいう。そのようなベクターとしては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、動物個体および植物個体などの宿主細胞において自立複製が可能、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチ

ドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。ベクターのうち、クローニングに適したベクターを「クローニングベクター」という。そのようなクローニングベクターは通常、制限酵素部位を複数含むマルチプルクローニング部位を含む。そのような制限酵素部位およびマルチプルクローニング部位は、当該分野において周知であり、当業者は、目的に合わせて適宜選択して使用することができる。そのような技術は、本明細書に記載される文献（例えば、Sambrookら、前出）に記載されている。

#### 【0197】

本明細書において「発現ベクター」とは、構造遺伝子およびその発現を調節するプロモーターに加えて種々の調節エレメントが宿主の細胞中で作動し得る状態で連結されている核酸配列をいう。調節エレメントは、好ましくは、ターミネーター、薬剤耐性遺伝子のような選択マーカーおよび、エンハンサーを含み得る。生物（例えば、動物）の発現ベクターのタイプおよび使用される調節エレメントの種類が、宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。

#### 【0198】

本発明において用いられ得る原核細胞に対する「組み換えベクター」としては、p cDNA3 (+)、p Bluescript-SK (+/-)、p GEM-T、p EF-BOS、p EGFP、p HAT、p UC18、p FT-DESTT M42 GATEWAY (Invitrogen) などが例示される。

#### 【0199】

本発明において用いられ得る動物細胞に対する「組み換えベクター」としては、p cDNA1/Amp、p cDNA1、p CDM8（いずれもフナコシより市販）、p AGE107（特開平3-229 (Invitrogen)）、p AGE103 (J. Biochem., 101, 1307 (1987))、p AMo、p AMoA (J. Biol. Chem., 268, 22782-22787 (1993))、マウス幹細胞ウイルス (Murine Stem Cell Virus) (MSCV) に基づいたレトロウイルス型発現ベクター、p EF-BOS、p EGFPなどが例示される。

#### 【0200】

植物細胞に対する「組換えベクター」としては、Ti プラスミド、タバコモザイクウイルスベクター、カリフラワーモザイクウイルスベクター、ジェミニウイルスベクターなどが例示される。

#### 【0201】

昆虫細胞に対する「組換えベクター」としては、バキュロウイルスベクターなどが例示される。

#### 【0202】

本明細書において「ターミネーター」は、遺伝子のタンパク質をコードする領域の下流に位置し、DNAがmRNAに転写される際の転写の終結、ポリA配列の付加に参与する配列である。ターミネーターは、mRNAの安定性に参与して遺伝子の発現量に影響を及ぼすことが知られている。

#### 【0203】

本明細書において「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、またその頻度を直接的に調節するDNA上の領域をいい、通常RNAポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。したがって、本明細書においてある遺伝子のプロモーターの働きを有する部分を「プロモーター部分」という。プロモーターの領域は、通常、推定タンパク質コード領域の第1エキソンの上流約2 k b p 以内の領域であることが多いので、DNA解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子の下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳開始点から上流約2 k b p 以内に存在する。

#### 【0204】

本明細書において「エンハンサー」とは、目的遺伝子の発現効率を高めるために用いられる配列をいう。そのようなエンハンサーは当該分野において周知である。エンハンサーは複数個用いられ得るが1個用いられてもよいし、用いなくともよい。

#### 【0205】

本明細書において「サイレンサー」とは、遺伝子発現を抑制し静止する機能を有する配列をいう。本発明では、サイレンサーとしてはその機能を有する限り、どのようなものを用いてもよく、サイレンサーを用いなくてもよい。

#### 【0206】

本明細書において「作動可能に連結された(る)」とは、所望の配列の発現(作動)がある転写翻訳調節配列(例えば、プロモーター、エンハンサーなど)または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

#### 【0207】

本明細書において、校正機能を改変したDNAポリメラーゼなどをコードする核酸分子を細胞に導入する技術は、どのような技術でもよく、例えば、形質転換、形質導入、トランスフェクションなどが挙げられる。そのような核酸分子の導入技術は、当該分野において周知であり、あるいは、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. et al. 編(1988)、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY; Sambrook Jら(1987) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. およびその第三版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。遺伝子の導入は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット分析のような本明細書に記載される方法または他の周知慣用技術を用いて確認することができる。

#### 【0208】

また、ベクターの導入方法としては、細胞にDNAを導入する上述のような方法であればいずれも用いることができ、例えば、トランスフェクション、形質導入、形質転換など(例えば、リン酸カルシウム法、リボソーム法、DEAEデキストラン法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン(遺伝子銃)を用いる方法など)が挙げられる。

## 【0209】

本明細書において「形質転換体」とは、形質転換によって作製された細胞などの生命体の全部または一部をいう。形質転換体としては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞などが例示される。形質転換体は、その対象に依存して、形質転換細胞、形質転換組織、形質転換宿主などともいわれる。本発明において用いられる細胞は、形質転換体であってもよい。

## 【0210】

本発明において遺伝子操作などにおいて原核生物細胞が使用される場合、原核生物細胞としては、*Escherichia* 属、*Serratia* 属、*Bacillus* 属、*Brevibacterium* 属、*Corynebacterium* 属、*Microbacterium* 属、*Pseudomonas* 属などに属する原核生物細胞、例えば、*Escherichia coli* XL1-Blue、*Escherichia coli* XL2-Blue、*Escherichia coli* DH1 が例示される。

## 【0211】

本明細書において使用される場合、動物細胞としては、マウス・ミエローマ細胞、ラット・ミエローマ細胞、マウス・ハイブリドーマ細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞である CHO 細胞、BHK 細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、ヒト白血病細胞、HBT5637（特開昭63-299）、ヒト結腸癌細胞株などを挙げることができる。マウス・ミエローマ細胞としては、ps20、NSO など、ラット・ミエローマ細胞としては YB2/0 など、ヒト胎児腎臓細胞としては HEK293（ATCC:CRL-1573）など、ヒト白血病細胞としては BALL-1 など、アフリカミドリザル腎臓細胞としては COS-1、COS-7、ヒト結腸癌細胞株としては HCT-15、ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH、SK-N-SH-5Y、マウス神経芽細胞腫 Neuro2A などが例示される。

## 【0212】

本明細書において使用される場合、組換えベクターの導入方法としては、DNA を導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、塩化カルシウム



法、エレクトロポレーション法 (Methods. Enzymol., 194, 182 (1990))、リポフェクション法、スフェロプラスト法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1929 (1978))、酢酸リチウム法 (J. Bacteriol., 153, 163 (1983))、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978) 記載の方法などが例示される。

#### 【0213】

本明細書において、レトロウイルスの感染方法は、例えば、Current Protocols in Molecular Biology 前出 (特に Units 9.9-9.14) などに記載されるように、当該分野において周知であり、例えば、トリプシナイズして胚性幹細胞を単一細胞懸濁物 (single-cell suspension) にした後、ウイルス産生細胞 (virus-producing cells) (パッケージング細胞株=packaging cell lines) の培養上清と一緒に 1-2 時間共培養 (co-culture) することにより、十分量の感染細胞を得ることができる。

#### 【0214】

本明細書において遺伝子発現 (たとえば、mRNA発現、ポリペプチド発現) の「検出」または「定量」は、例えば、mRNAの測定および免疫学的測定方法を含む適切な方法を用いて達成され得る。分子生物学的測定方法としては、例えば、ノーザンブロット法、ドットブロット法またはPCR法などが例示される。免疫学的測定方法としては、例えば、方法としては、マイクロタイタープレートを用いるELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などが例示される。また、定量方法としては、ELISA法またはRIA法などが例示される。アレイ (例えば、DNAアレイ、プロテインアレイ) を用いた遺伝子解析方法によっても行われ得る。DNAアレイについては、(秀潤社編、細胞工学別冊「DNAマイクロアレイと最新PCR法」) に広く概説されている。プロテインアレイについては、Nat Genet. 2002 Dec; 32 Suppl: 526-32 に詳述されている。遺伝子発現の分析法とし

ては、上述に加えて、RT-PCR、RACE法、SSCP法、免疫沈降法、two-hybridシステム、インビトロ翻訳などが挙げられるがそれらに限定されない。そのようなさらなる分析方法は、例えば、ゲノム解析実験法・中村祐輔ラボ・マニュアル、編集・中村祐輔 羊土社（2002）などに記載されており、本明細書においてそれらの記載はすべて参考として援用される。

#### 【0215】

本明細書において「発現量」とは、対象となる細胞などにおいて、ポリペプチドまたはmRNAが発現される量をいう。そのような発現量としては、本発明の抗体を用いてELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などの免疫学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明ポリペプチドのタンパク質レベルでの発現量、またはノーザンブロット法、ドットブロット法、PCR法などの分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドのmRNAレベルでの発現量が挙げられる。「発現量の変化」とは、上記免疫学的測定方法または分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドのタンパク質レベルまたはmRNAレベルでの発現量が増加あるいは減少することを意味する。

#### 【0216】

本明細書において「上流」という用語は、特定の基準点からポリヌクレオチドの5'末端に向かう位置を示す。

#### 【0217】

本明細書において「下流」という用語は、特定の基準点からポリヌクレオチドの3'末端に向かう位置を示す。

#### 【0218】

本明細書において「塩基対の」および「Watson & Crick塩基対の」という表現は、本明細書では同義に用いられ、二重らせん状のDNAにおいて見られるものと同様に、アデニン残基が2つの水素結合によってチミン残基またはウラシル残基と結合し、3つの水素結合によってシトシン残基とグアニン残基とが結合するという配列の正体に基づいて互いに水素結合可能なヌクレオチド

を示す (Stryer, L., Biochemistry, 4th edition, 1995を参照)。

#### 【0219】

本明細書において「相補的」または「相補体」という用語は、本明細書では、相補領域全体がそのまま別の特定のポリヌクレオチドとWatson&Crick塩基対を形成することのできるポリヌクレオチドの配列を示す。本発明の目的で、第1のポリヌクレオチドの各塩基がその相補塩基と対になっている場合に、この第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと相補であるとみなす。相補塩基は一般に、AとT（あるいはAとU）、またはCとGである。本願明細書では、「相補」という語を「相補ポリヌクレオチド」、「相補核酸」および「相補ヌクレオチド配列」の同義語として使用する。これらの用語は、その配列のみに基づいてポリヌクレオチドの対に適用されるものであり、2つのポリヌクレオチドが事実上結合状態にある特定のセットに適用されるものではない。

#### 【0220】

胚性幹 (ES) 細胞の相同組換えを介したトランスジェニック動物およびノックアウト動物の作製および解析が重要な手段となってきた。トランスジェニック動物またはノックアウト哺乳動物は、例えば相同組換えを応用したポジティブネガティブセレクション法を用いて作製することができる (米国特許第5, 464, 764号公報、米国特許第5, 487, 992号公報、米国特許第5, 627, 059号公報、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 86, 8932-8935, 1989、Nature, Vol. 342, 435-438, 1989などを参照)。ノックアウト動物作出 (ジーンターゲティングとも呼ばれる) の概説に関しては、例えば、村松正實、山本雅編集、『実験医学別冊 新訂 遺伝子工学ハンドブック 改訂第3版』(1999年、羊土社発行) 中特に239から256頁、相沢慎一 (1995) 実験医学別冊「ジーンターゲティング-ES細胞を用いた変異マウスの作製」などに記載され、ますます汎用されている。本発明では、このような方法を適宜用いることができる。

#### 【0221】

例えば、高等生物では、ネオマイシン耐性遺伝子を用いる陽性選択とHSVの

チミジンキナーゼ遺伝子やジフテリア毒素遺伝子を用いる陰性選択により組換え体の効率的な選別が行われている。ノックアウトPCRまたはサザンブロット法により相同組換え体の選択が行われる。すなわち、標的遺伝子の一部を陽性選択用のネオマイシン耐性遺伝子等で置換し、その末端に陰性選択用のHSVTK遺伝子等を連結したターゲティングベクターを作成し、エレクトロポレーションによりES細胞に導入し、例えば、G418およびガンシクロビルの存在下で選択して、生じたコロニーを単離し、さらにPCRまたはサザンブロットにより相同組換え体を選択する。

#### 【0222】

このように、内在する標的遺伝子を破壊して、機能が喪失したかまたは減少した変異を有するトランスジェニックまたはノックアウト（標的遺伝子組換え、遺伝子破壊）マウスを作製する方法は、標的とした遺伝子だけに変異が導入されるので、その遺伝子機能の解析に有用である。

#### 【0223】

所望の相同組換え体を選択した後、得られた組換えES細胞を胚盤注入法または集合キメラ法により正常な胚と混合してES細胞と宿主胚とのキメラマウスを作製する。胚盤注入法では、ES細胞を胚盤胞にガラスピペットで注入する。集合キメラ法では、ES細胞の塊と透明帯を除去した8細胞期の胚とを接着させる。ES細胞を導入した胚盤胞を偽妊娠させた代理母の子宮に移植してキメラマウスを得る。ES細胞は、全能性を有するので、生体内では、生殖細胞を含め、あらゆる種類の細胞に分化することができる。ES細胞由来の生殖細胞を有するキメラマウスと正常マウスを交配させるとES細胞の染色体をヘテロに有するマウスが得られ、このマウス同士を交配するとES細胞の改変染色体をホモに有するノックアウトマウスが得られる。得られたキメラマウスから改変染色体をホモに有するノックアウトマウスを得るには、雄性キメラマウスと雌性野生型マウスとを交配して、F1世代のヘテロ接合体マウスを産出させ、生まれた雄性および雌性のヘテロ接合体マウスを交配して、F2世代のホモ接合体マウスを選択する。F1およびF2の各世代において所望の遺伝子変異が導入されているか否かは、組換えES細胞のアッセイと同様に、サザンブロッティング、PCR、塩基配列

の解説など当該分野において慣用される方法を用いて分析され得る。

#### 【0224】

多様な遺伝子機能を選択的に解析することができないという問題を克服する別の技術として、Creレコンビナーゼの細胞種特異的発現とCre-loxPの部位特異的組み換えを併用するコンディショナルノックアウト技術が注目されている。Cre-loxPを用いるコンディショナルノックアウトマウスは、標的遺伝子の発現を阻害しない位置にネオマイシン耐性遺伝子を導入し、後に削除するエクソンをはさむようにしてloxP配列を挿入したターゲティングベクターをES細胞に導入し、その後相同組換え体を単離する。この単離したクローンからキメラマウスを得、遺伝子改変マウスが作製される。次に、大腸菌のP1ファージ由来の部位特異的組換え酵素Creを組織特異的に発現するトランスジェニックマウスとこのマウスを交配させると、Creを発現する組織中でのみ遺伝子が破壊される（ここでは、Creは、loxP配列（34bp）を特異的に認識して、2つのloxP配列にはさまれた配列で組換えを起こさせ、これが破壊される）。臓器特異的なプロモータに連結したCre遺伝子を有するトランスジェニックマウスと交配させるか、またはCre遺伝子を有するウイルスベクターを使用して、成体でCreを発現させることができる（Stanford WL., et al., Nature Genetics 2:756-768 (2001) を参照）。

#### 【0225】

このようにして、本発明の生物を作製することができる。

#### 【0226】

（ポリペプチドの製造方法）

本発明の方法によって生産された微生物、動物細胞などに由来する形質転換体を、通常の培養方法に従って培養し、本発明のポリペプチドを生成蓄積させ、本発明の培養物より本発明のポリペプチドを採取することにより、本発明に係るポリペプチドのような代謝物を製造することができる。

#### 【0227】

本発明の形質転換体を培地に培養する方法は、宿主の培養に用いられる通常の

方法に従って行うことができる。大腸菌等の原核生物あるいは酵母等の真核生物を宿主として得られた形質転換体を培養する培地としては、本発明の生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含み、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

#### 【0228】

炭素源としては、それぞれの微生物が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含み、糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノール等のアルコール類を用いることができる。

#### 【0229】

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の各種無機酸または有機酸のアンモニウム塩、その他含窒素物質、ならびに、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体およびその消化物等を用いることができる。

#### 【0230】

無機塩としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。培養は、振盪培養または深部通気攪拌培養等の好氣的条件下で行う。

#### 【0231】

培養温度は15～40℃がよく、培養時間は、通常5時間～7日間である。培養中pHは、3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機あるいは有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニア等を用いて行う。また培養中に必要に応じて、アンピシリンまたはテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

#### 【0232】

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加しても

よい。例えば、lacプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピル- $\beta$ -D-チオガラクトピラノシド等を、trpプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸等を培地に添加してもよい。遺伝子を導入した植物の細胞または器官は、ジャーファーマンターを用いて大量培養することができる。培養する培地としては、一般に使用されているムラシゲ・アンド・スクーグ (MS) 培地、ホワイト (White) 培地、またはこれら培地にオーキシン、サイトカイニン等、植物ホルモンを添加した培地等を用いることができる。

#### 【0233】

例えば、動物細胞を用いる場合、本発明の細胞を培養する培地は、一般に使用されているRPMI 1640培地 (The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967))、EagleのMEM培地 (Science, 122, 501 (1952))、DMEM培地 (Virology, 8, 396 (1959))、199培地 (Proceedings of the Society for the Biological Medicine, 73, 1 (1950)) またはこれら培地にウシ胎児血清等を添加した培地等が用いられる。

#### 【0234】

培養は、通常 pH 6~8、25~40℃、5% CO<sub>2</sub> 存在下等の条件下で1~7日間行う。また培養中必要に応じて、カナマイシン、ペニシリン、ストレプトマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

#### 【0235】

本発明のポリペプチドをコードする核酸配列で形質転換された形質転換体の培養物から、本発明のポリペプチドを単離または精製するためには、当該分野で周知慣用の通常の酵素の単離または精製法を用いることができる。例えば、本発明のポリペプチドが本発明のポリペプチド製造用形質転換体の細胞外に本発明のポリペプチドが分泌される場合には、その培養物を遠心分離等の手法により処理し、可溶性画分を取得する。その可溶性画分から、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法脱塩法、有機溶媒による沈澱法、ジエチルアミノエチル (DEAE) - Sep

harose、DIAION HPA-75 (三菱化成) 等樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF (Pharmacia) 等の樹脂を用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等の樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を用い、精製標品を得ることができる。

#### 【0236】

本発明のポリペプチドが本発明のポリペプチド製造用形質転換体の細胞内に溶解状態で蓄積する場合には、培養物を遠心分離することにより、培養物中の細胞を集め、その細胞を洗浄した後に、超音波破碎機、フレンチプレス、マントンガウリンホモジナイザー、ダイノミル等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。その無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法脱塩法、有機溶媒による沈澱法、ジエチルアミノエチル (DEAE) -Sepharose、DIAION HPA-75 (三菱化成) 等樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF (Pharmacia) 等の樹脂を用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等の樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を用いることによって、精製標品を得ることができる。

#### 【0237】

本発明のポリペプチドが細胞内に不溶体を形成して発現した場合は、同様に細胞を回収後破碎し、遠心分離を行うことにより得られた沈澱画分より、通常の方法により本発明のポリペプチドを回収後、そのポリペプチドの不溶体をポリペプチド変性剤で可溶化する。この可溶化液を、ポリペプチド変性剤を含まないあるいはポリペプチド変性剤の濃度がポリペプチドが変性しない程度に希薄な溶液に希釈、あるいは透析し、本発明のポリペプチドを正常な立体構造に構成させた後、上記と同様の単離精製法により精製標品を得ることができる。



## 【0238】

また、通常のタンパク質の精製方法 (J. Evan. Sadlerら: *Methods in Enzymology*, 83, 458) に準じて精製できる。また、本発明のポリペプチドを他のタンパク質との融合タンパク質として生産し、融合したタンパク質に親和性をもつ物質を用いたアフィニティークロマトグラフィーを利用して精製することもできる (山川彰夫, *実験医学 (Experimental Medicine)*, 13, 469-474 (1995))。例えば、Loweらの方法 (*Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 86, 8227-8231 (1989)、*Genes Develop.*, 4, 1288 (1990)) に記載の方法に準じて、本発明のポリペプチドをプロテインAとの融合タンパク質として生産し、イムノグロブリンGを用いるアフィニティークロマトグラフィーにより精製することができる。

## 【0239】

また、本発明のポリペプチドをFLAGペプチドとの融合タンパク質として生産し、抗FLAG抗体を用いるアフィニティークロマトグラフィーにより精製することができる [*Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 86, 8227 (1989)、*Genes Develop.*, 4, 1288 (1990)]。

## 【0240】

さらに、本発明のポリペプチド自身に対する抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーで精製することもできる。本発明のポリペプチドは、公知の方法 (*J. Biomolecular NMR*, 6, 129-134、*Science*, 242, 1162-1164、*J. Biochem.*, 110, 166-168 (1991)) に準じて、*in vitro* 転写・翻訳系を用いて生産することができる。

## 【0241】

本発明のポリペプチドは、そのアミノ酸情報を基に、Fmoc法 (フルオレニルメチルオキシカルボニル法)、tBoc法 (t-ブチルオキシカルボニル法) 等の化学合成法によっても製造することができる。また、*Advanced C*

hemTech、Applied Biosystems、Pharmacia Biotech、Protein Technology Instrument、Synthecell-Vega、PerSeptive、島津製作所等のペプチド合成機を利用し化学合成することもできる。

#### 【0242】

精製した本発明のポリペプチドの構造解析は、タンパク質化学で通常用いられる方法、例えば遺伝子クローニングのためのタンパク質構造解析（平野久著、東京化学同人発行、1993年）に記載の方法により実施可能である。本発明の新規ps20様ポリペプチドの生理活性は、公知の測定法（Cell, 75, 1389 (1993)、J. Cell Bio. 1146, 233 (1999)、Cancer Res. 58, 1238 (1998)、Neuron 17, 1157 (1996)、Science 289, 1197 (2000)）に準じて測定することができる。

#### 【0243】

（スクリーニング）

本明細書において「スクリーニング」とは、目的とするある特定の性質をもつ生物または物質などの標的を、特定の操作／評価方法で多数を含む集団の中から選抜することをいう。スクリーニングのために、本発明の因子（例えば、抗体）、ポリペプチドまたは核酸分子を使用することができる。スクリーニングは、インビトロ、インビボなど実在物質を用いた系を使用してもよく、インシリコ（コンピュータを用いた系）の系を用いて生成されたライブラリーを用いてもよい。本発明では、所望の活性を有するスクリーニングによって得られた化合物もまた、本発明の範囲内に包含されることが理解される。また本発明では、本発明の開示をもとに、コンピュータモデリングによる薬物が提供されることも企図される。

#### 【0244】

このようなスクリーニングまたは同定の方法は、当該分野において周知であり、例えば、そのようなスクリーニングまたは同定は、マイクロタイタープレート、DNAまたはプロテインなどの生体分子アレイまたはチップを用いて行うこと

ができる。スクリーニングの試験因子を含む対象としては、例えば、遺伝子のライブラリー、コンビナトリアルライブラリーで合成した化合物ライブラリーなどが挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0245】

したがって、好ましい実施形態では、本発明は、乳房に関連する状態、障害および／または疾患の調節因子を同定する方法を提供する。このような調節因子は、それぞれの疾患の医薬またはそのリード化合物として用いることができる。そのような調節因子ならびにその調節因子を含む医薬およびそれを利用する治療もまた、本発明の範囲内にあることが意図される。

#### 【0246】

したがって、本発明では、本発明の開示をもとに、コンピュータモデリングによる薬物が提供されることも企図される。

#### 【0247】

本発明は、他の実施形態において、本発明の化合物に対する調節活性についての有効性のスクリーニングの道具として、コンピュータによる定量的構造活性相関 (quantitative structure activity relationship=QSAR) モデル化技術を使用して得られる化合物を包含する。ここで、コンピューター技術は、いくつかのコンピュータによって作成した基質鑄型、ファーマコフォア、ならびに本発明の活性部位の相同モデルの作製などを包含する。一般に、インビトロで得られたデータから、ある物質に対する相互作用物質の通常の特徴基をモデル化することに対する方法は、最近CATALYSTTM ファーマコフォア法 (Ekins et al., Pharmacogenetics, 9:477~489, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 288:21~29, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 290:429~438, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 291:424~433, 1999) および比較分子電界分析 (comparative molecular field analysis; CoMFA) (Jones et

al.、Drug Metabolism & Disposition, 24:1~6, 1996) などを使用して示されている。本発明において、コンピュータモデリングは、分子モデル化ソフトウェア (例えば、CATALYST<sup>TM</sup> バージョン 4 (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA) など) を使用して行われ得る。

#### 【0248】

活性部位に対する化合物のフィッティングは、当該分野で公知の種々のコンピュータモデリング技術のいずれかを使用してで行うことができる。視覚による検査および活性部位に対する化合物のマニュアルによる操作は、QUANTA (Molecular Simulations, Burlington, MA, 1992)、SYBYL (Molecular Modeling Software, Tripos Associates, Inc., St. Louis, MO, 1992)、AMBER (Weiner et al.、J. Am. Chem. Soc., 106:765-784, 1984)、CHARMM (Brooks et al.、J. Comp. Chem., 4:187-217, 1983) などのようなプログラムを使用して行うことができる。これに加え、CHARMM、AMBERなどのような標準的な力場を使用してエネルギーの最小化を行うこともできる。他のさらに特殊化されたコンピュータモデリングは、GRID (Goodford et al.、J. Med. Chem., 28:849-857, 1985)、MCSS (Miranker and Karplus, Function and Genetics, 11:29-34, 1991)、AUTODOCK (Goodsell and Olsen, Proteins: Structure, Function and Genetics, 8:195-202, 1990)、DOCK (Kuntz et al.、J. Mol. Biol., 161:269-288, (1982)) などを含む。さらなる構造の化合物は、空白の活性部位、既知の低分子化合物における活性部位などに、LUDI (Bohm, J. Comp. Aid. Molec. Design, 6:61-78, 1992)、LEGEND (Nishibata and Itai, Tetrahedron, 47:8985, 1991)、Lea

pFrog (Tripos Associates, St. Louis, MO) などのようなコンピュータプログラムを使用して新規に構築することもできる。このようなモデリングは、当該分野において周知慣用されており、当業者は、本明細書の開示に従って、適宜本発明の範囲に入る化合物（例えば、所望の校正機能を付与する化合物など）を設計することができる。

#### 【0249】

(疾患)

本発明が対象とし得る疾患および障害は、対象となる生物が罹患し得る疾患および障害であり得る。

#### 【0250】

1つの実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、循環器系（血液細胞など）であり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：貧血（例えば、再生不良性貧血（特に重症再生不良性貧血）、腎性貧血、癌性貧血、二次性貧血、不応性貧血など）、癌または腫瘍（例えば、白血病）およびその化学療法処置後の造血不全、血小板減少症、急性骨髄性白血病（特に、第1寛解期（High-risk群）、第2寛解期以降の寛解期）、急性リンパ性白血病（特に、第1寛解期、第2寛解期以降の寛解期）、慢性骨髄性白血病（特に、慢性期、移行期）、悪性リンパ腫（特に、第1寛解期（High-risk群）、第2寛解期以降の寛解期）、多発性骨髄腫（特に、発症後早期）など。

#### 【0251】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、神経系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：痴呆症、脳卒中およびその後遺症、脳腫瘍、脊髄損傷。

#### 【0252】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、免疫系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：T細胞欠損症、白血病。

## 【0253】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、運動器・骨格系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：骨折、骨粗鬆症、関節の脱臼、亜脱臼、捻挫、靱帯損傷、変形性関節症、骨肉腫、ユーイング肉腫、骨形成不全症、骨軟骨異形成症。

## 【0254】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、皮膚系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：無毛症、黒色腫、皮膚悪性リンパ腫、血管肉腫、組織球症、水疱症、膿疱症、皮膚炎、湿疹。

## 【0255】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、内分泌系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：視床下部・下垂体疾患、甲状腺疾患、副甲状腺（上皮小体）疾患、副腎皮質・髄質疾患、糖代謝異常、脂質代謝異常、タンパク質代謝異常、核酸代謝異常、先天性代謝異常（フェニールケトン尿症、ガラクトース血症、ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症）、無アルブミン血症、アスコルビン酸合成能欠如、高ビリルビン血症、高ビリルビン尿症、カリクレイン欠損、肥満細胞欠損、尿崩症、バソプレッシン分泌異常、侏儒症、ウオルマン病（酸リパーゼ（Acid lipase）欠損症）、ムコ多糖症VI型。

## 【0256】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、呼吸器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：肺疾患（例えば、肺炎、肺癌など）、気管支疾患。

## 【0257】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、消化器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：食道疾患（たとえば、食道癌）、胃・十二指腸疾患

(たとえば、胃癌、十二指腸癌)、小腸疾患・大腸疾患(たとえば、大腸ポリープ、結腸癌、直腸癌など)、胆道疾患、肝臓疾患(たとえば、肝硬変、肝炎(A型、B型、C型、D型、E型など)、劇症肝炎、慢性肝炎、原発性肝癌、アルコール性肝障害、薬物性肝障害)、膵臓疾患(急性膵炎、慢性膵炎、膵臓癌、嚢胞性膵疾患)、腹膜・腹壁・横隔膜疾患(ヘルニアなど)、ヒルシュスブラング病。

#### 【0258】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、泌尿器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：腎疾患(腎不全、原発性糸球体疾患、腎血管障害、尿細管機能異常、間質性腎疾患、全身性疾患による腎障害、腎癌など)、膀胱疾患(膀胱炎、膀胱癌など)。

#### 【0259】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、生殖器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：男性生殖器疾患(男性不妊、前立腺肥大症、前立腺癌、精巣癌など)、女性生殖器疾患(女性不妊、卵巣機能障害、子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮癌、子宮内膜症、卵巣癌、絨毛性疾患など)。

#### 【0260】

別の実施形態において、本発明が対象とし得る疾患および障害は、循環器系のものであり得る。そのような疾患または障害としては、例えば、以下が挙げられるがそれらに限定されない：心不全、狭心症、心筋梗塞、不整脈、弁膜症、心筋・心膜疾患、先天性心疾患(たとえば、心房中隔欠損、心室中隔欠損、動脈管開存、ファロー四徴)、動脈疾患(たとえば、動脈硬化、動脈瘤)、静脈疾患(たとえば、静脈瘤)、リンパ管疾患(たとえば、リンパ浮腫)。

#### 【0261】

本発明が対象とし得る疾患(病害)および障害は、植物の病害および障害であり得る。そのような病害および障害としては、例えば、いもち病、寒冷障害が挙げられるがそれらに限定されない。

## 【0262】

本発明によって得られた生産物質などが医薬として使用される場合、そのような生産物質などは、薬学的に受容可能なキャリアなどをさらに含み得る。本発明の医薬に含まれる薬学的に受容可能なキャリアとしては、当該分野において公知の任意の物質が挙げられる。

## 【0263】

そのような適切な処方材料または薬学的に受容可能なキャリアとしては、抗酸化剤、保存剤、着色料、風味料、および希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝剤、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または薬学的アジュバントが挙げられるがそれらに限定されない。代表的には、本発明の医薬は、アディポネクチン、またはその改変体もしくは誘導体を、1つ以上の生理的に受容可能なキャリア、賦形剤または希釈剤とともに含む組成物の形態で投与される。例えば、適切なビヒクルは、注射用水、生理的溶液、または人工脳脊髄液であり得、これらには、非経口送達のための組成物に一般的な他の物質を補充することが可能である。

## 【0264】

本明細書で使用される受容可能なキャリア、賦形剤または安定化剤は、レシピエントに対して非毒性であり、そして好ましくは、使用される投薬量および濃度において不活性であり、例えば、リン酸塩、クエン酸塩、または他の有機酸；アスコルビン酸、 $\alpha$ -トコフェロール；低分子量ポリペプチド；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン）；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン）；モノサッカリド、ジサッカリドおよび他の炭水化物（グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む）；キレート剤（例えば、EDTA）；糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；ならびに／あるいは非イオン性表面活性剤（例えば、Tween、プルロニック（pluronic）またはポリエチレングリコール（PEG））などが挙げられるがそれらに限定されない。



## 【0265】

例示の適切なキャリアとしては、中性緩衝化生理食塩水、または血清アルブミンと混合された生理食塩水が挙げられる。好ましくは、その生成物は、適切な賦形剤（例えば、スクロース）を用いて凍結乾燥剤として処方される。他の標準的なキャリア、希釈剤および賦形剤は所望に応じて含まれ得る。他の例示的な組成物は、pH 7.0-8.5のTris緩衝剤またはpH 4.0-5.5の酢酸緩衝剤を含み、これらは、さらに、ソルビトールまたはその適切な代替物を含み得る。

## 【0266】

以下に本発明の医薬組成物の一般的な調製法を示す。なお、動物薬組成物、医薬部外品、水産薬組成物、食品組成物および化粧品組成物等についても公知の調製法により製造することができる。

## 【0267】

本発明の生産物質などは、薬学的に受容可能なキャリアと配合し、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、粉剤、座剤等の固形製剤、またはシロップ剤、注射剤、懸濁剤、溶液剤、スプレー剤等の液状製剤として経口または非経口的に投与することができる。薬学的に受容可能なキャリアとしては、上述のように、固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、崩壊阻害剤、吸収促進剤、吸着剤、保湿剤、溶解補助剤、安定化剤、液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤等が挙げられる。また、必要に応じ、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の製剤添加物を用いることができる。また、本発明の組成物には本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドなど以外の物質を配合することも可能である。非経口の投与経路としては、静脈内注射、筋肉内注射、経鼻、直腸、膣および経皮等が挙げられるがそれらに限定されない。

## 【0268】

固形製剤における賦形剤としては、例えば、グルコース、ラクトース、スクロース、D-マンニトール、結晶セルロース、デンプン、炭酸カルシウム、軽質無水ケイ酸、塩化ナトリウム、カオリンおよび尿素等が挙げられる。

## 【0269】

固形製剤における滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ホウ酸末、コロイド状ケイ酸、タルクおよびポリエチレングリコール等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0270】

固形製剤における結合剤としては、例えば、水、エタノール、プロパノール、白糖、D-マンニトール、結晶セルロース、デキストリン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、デンプン溶液、ゼラチン溶液、ポリビニルピロリドン、リン酸カルシウム、リン酸カリウム、およびシェラック等が挙げられる。

#### 【0271】

固形製剤における崩壊剤としては、例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カンテン末、ラミナラン末、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、アルギン酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、デンプン、ステアリン酸モノグリセリド、ラクトースおよび繊維素グリコール酸カルシウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0272】

固形製剤における崩壊阻害剤の好適な例としては、水素添加油、白糖、ステアリン、カカオ脂および硬化油等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0273】

固形製剤における吸収促進剤としては、例えば、第四級アンモニウム塩基類およびラウリル硫酸ナトリウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0274】

固形製剤における吸着剤としては、例えば、デンプン、ラクトース、カオリン、ベントナイトおよびコロイド状ケイ酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0275】

固形製剤における保湿剤としては、例えば、グリセリン、デンプン等が挙げら

れるがそれらに限定されない。

#### 【0276】

固形製剤における溶解補助剤としては、例えば、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0277】

固形製剤における安定化剤としては、例えば、ヒト血清アルブミン、ラクトース等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0278】

固形製剤として錠剤、丸剤等を調製する際には、必要により胃溶性または腸溶性物質（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等）のフィルムで被覆していてもよい。錠剤には、必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば、糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠が含まれる。カプセル剤にはハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。座剤の形態に成形する際には、上記に列挙した添加物以外に、例えば、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、半合成グリセライド等を添加することができるがそれらに限定されない。

#### 【0279】

液状製剤における溶剤の好適な例としては、注射用水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油およびトウモロコシ油等が挙げられる。

#### 【0280】

液状製剤における溶解補助剤の好適な例としては、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウムおよびクエン酸ナトリウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0281】

液状製剤における懸濁化剤の好適な例としては、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン等の界面

活性剤、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等の親水性高分子等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0282】

液状製剤における等張化剤の好適な例としては、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトール等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0283】

液状製剤における緩衝剤の好適な例としては、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩およびクエン酸塩等の緩衝液等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0284】

液状製剤における無痛化剤の好適な例としては、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウムおよび塩酸プロカイン等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0285】

液状製剤における防腐剤の好適な例としては、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、2-フェニルエチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0286】

液状製剤における抗酸化剤の好適な例としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸、 $\alpha$ -トコフェロールおよびシステイン等が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0287】

注射剤として調製する際には、液剤および懸濁剤は殺菌され、かつ血液と等張であることが好ましい。通常、これらは、バクテリア保留フィルター等を用いる過、殺菌剤の配合または照射によって無菌化する。さらにこれらの処理後、凍結乾燥等の方法により固形物とし、使用直前に無菌水または無菌の注射用希釈剤（塩酸リドカイン水溶液、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、エタノールまたはこれらの混合溶液等）を添加してもよい。

#### 【0288】

さらに、必要ならば、医薬組成物は、着色料、保存剤、香料、矯味矯臭剤、甘

味料等、ならびに他の薬剤を含んでいてもよい。

#### 【0289】

本発明の医薬は、経口的または非経口的に投与され得る。あるいは、本発明の医薬は、静脈内または皮下で投与され得る。全身投与されるとき、本発明において使用される医薬は、発熱物質を含まない、薬学的に受容可能な水溶液の形態であり得る。そのような薬学的に受容可能な組成物の調製は、pH、等張性、安定性などを考慮することにより、当業者は、容易に行うことができる。本明細書において、投与方法は、経口投与、非経口投与（例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、粘膜投与、直腸内投与、腔内投与、患部への局所投与、皮膚投与など）であり得る。そのような投与のための処方物は、任意の製剤形態で提供され得る。そのような製剤形態としては、例えば、液剤、注射剤、徐放剤が挙げられる。

#### 【0290】

本発明の医薬は、必要に応じて生理学的に受容可能なキャリア、賦型剤または安定化剤（日本薬局方第14版またはその最新版、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990などを参照）と、所望の程度の純度を有する糖鎖組成物とを混合することによって、凍結乾燥されたケーキまたは水溶液の形態で調製され保存され得る。

#### 【0291】

様々な送達系が公知であり、そして本発明の化合物を投与するために用いられ得る（例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルなど）。導入方法としては、皮内、筋内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路が挙げられるがそれらに限定されない。化合物または組成物は、任意の好都合な経路により（例えば、注入またはボラス注射により、上皮または粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通しての吸収により）投与され得、そして他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身的または局所的であり得る。さらに、本発明の薬学的化合物または組成物を、任意の適切

な経路（脳室内注射および髄腔内注射を包含し；脳室内注射は、例えば、Ommaya リザーバのようなりザーバに取り付けられた脳室内カテーテルにより容易にされ得る）により中枢神経系に導入することが望まれ得る。例えば、吸入器または噴霧器の使用、およびエアロゾル化剤を用いた処方により、肺投与もまた使用され得る。

#### 【0292】

特定の実施形態において、本発明の生産物質またはそれを含む組成物を、処置の必要な領域に局所的に投与することが望まれ得る；これは、制限する目的ではないが、例えば、手術中の局部注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯との組み合わせて）により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、またはインプラント（このインプラントは、シアラスティック（sialastic）膜のような膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または膠様材料である）により達成され得る。好ましくは、本発明の生産物質を投与する際、その生産物質が吸収されない材料を使用するために注意が払われなければならない。

#### 【0293】

別の実施形態において、本発明の生産物質は、小胞、特に、リポソーム中に封入された状態で送達され得る（Langer, Science 249:1527-1533 (1990) ; Treatise, Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-BeresteinおよびFidler (編), Liss, New York, 353~365頁 (1989) ; Lopez-Berestein, 同書317~327頁を参照のこと；広く同書を参照のこと）。

#### 【0294】

さらに別の実施形態において、本発明の生産物質は、制御された徐放系中で送達され得る。1つの実施形態において、ポンプが用いられ得る（Langer (前出) ; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987) ; Buchwaldら, Surgery 88:507 (1980) ; Saudekら, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) を参照のこと）。別の実施形態において、高分子材料が用いられ得る

(Medical Applications of Controlled Release, LangerおよびWise (編), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, SmolenおよびBall (編), Wiley, New York (1984); RangerおよびPeppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983) を参照のこと; Levyら, Science 228:190 (1985); Duringら, Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howardら, J. Neurosurg. 71:105 (1989) もまた参照のこと)。

#### 【0295】

さらに別の実施形態において、制御された徐放系は、治療標的、即ち、脳の近くに置かれ得、従って、全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Goods on, Medical Applications of Controlled Release, (前出), 第2巻, 115～138頁 (1984) を参照のこと）。

#### 【0296】

他の制御された徐放系は、Langerにより総説において議論される (Science 249:1527-1533 (1990))。

#### 【0297】

本発明の処置方法において使用される生産物質および組成物の量は、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。本発明の処置方法を被験体（または患者）に対して施す頻度もまた、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、および治療経過などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。頻度としては、例えば、毎日数ヶ月に1回（例えば、1週間に1回－1ヶ月に1回）の投与が挙げられる。1週間－1ヶ月に1回の投与を、経過を見ながら施すことが好ましい。

## 【0298】

本発明の生産物質などの投与量は、被験体の年齢、体重、症状または投与方法などにより異なり、特に限定されないが、通常成人1日あたり、経口投与の場合、0.001mg～10gであり、より通常には0.01mg～10gであり、好ましくは、0.1mg～1g、1mg～100mg、0.1mg～10mgなどであり得る。非経口投与の場合、0.01mg～1gであり、好ましくは、0.01mg～100mg、0.1mg～100mg、1mg～100mg、0.1mg～10mgなどであり得る。

## 【0299】

本明細書中、「投与する」とは、本発明の生産物質などまたはそれを含む医薬組成物を、単独で、または他の治療剤と組み合わせて投与することを意味する。組み合わせは、例えば、混合物として同時に、別々であるが同時にもしくは並行して；または逐次的にかのいずれかで投与され得る。これは、組み合わせられた薬剤が、治療混合物としてともに投与される提示を含み、そして組み合わせた薬剤が、別々であるが同時に（例えば、同じ個体へ別々の静脈ラインを通じての場合）投与される手順もまた含む。「組み合わせ」投与は、第1に与えられ、続いて第2に与えられる化合物または薬剤のうちの1つを別々に投与することをさらに含む。

## 【0300】

本明細書において「指示書」は、本発明の医薬などを投与する方法または診断する方法などを医師、患者など投与を行う人、診断する人（患者本人であり得る）に対して記載したものである。この指示書は、本発明の診断薬、医薬などを投与する手順を指示する文言が記載されている。この指示書は、本発明が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書（package insert）であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体（例えば、インターネットで提供されるホームページ（ウェブサイト）、電子メール）のような形態でも提供され得る。



## 【0301】

本発明の方法による治療の終了の判断は、商業的に利用できるアッセイもしくは機器使用による標準的な臨床検査室の結果またはアディポネクチンに関連する疾患に特徴的な臨床症状の消滅によって支持され得る。治療は、アディポネクチンに関連する疾患の再発により再開することができる。

## 【0302】

本発明はまた、本発明の医薬組成物の1つ以上の成分を満たした1つ以上の容器を備える薬学的パックまたはキットを提供する。医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関が定めた形式の通知が、このような容器に任意に付属し得、この通知は、ヒトへの投与に対する製造、使用または販売に関する政府機関による承認を表す。

## 【0303】

(好ましい実施形態の説明)

以下に好ましい実施形態の説明を記載するが、この実施形態は本発明の例示であり、本発明の範囲はそのような好ましい実施形態に限定されないことが理解されるべきである。

## 【0304】

1つの局面において、本発明は、生物の遺伝形質の変換速度を調節する方法を提供する。この方法は、(a) 該生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を調節する工程、を包含する。ここで、エラープロン頻度の調節は、例えば、DNAポリメラーゼの校正機能を調節することによって行うことができる。あるいは、DNAポリメラーゼの重合反応において重合誤りを増加させることによって行うことができる。そのようなエラープロン頻度の調節は、当該分野において周知の技術を用いて、本明細書の開示をもとに行うことができる。このようなエラープロン頻度の調節により、従来の変異誘発では達成でいなかった迅速な変異誘発かつ天然に近い進化という効果が奏される。また、従来の変異誘発方法において問題であった、有益変異よりもはるかに高い頻度で発生する有害変異がほとんどなくなる。本発明の方法では、導入される変異は、天然において進化現象と同じ現象であるからである。

## 【0305】

従来の方法では、生物の変異率を上昇させれば、有益変異の発生頻度は上昇するが、同時に有害変異もまた発生し、通常は有害変異の発生頻度が高いことから有益変異の発生頻度は消失する。したがって、従来の方法では、有害変異の蓄積なしに、複数の有益変異を生物に誘発することは不可能であった。

## 【0306】

また、従来の変異方法では、天然の変異を利用する場合は、発生頻度が極めて低い（例えば、大腸菌等では $10^{-10}$ 変異（1塩基あたり1複製あたり））ことから、その速度はほとんど実用性に乏しい。また、有益変異は、天然の変異においてほとんど発生しない。したがって、天然の変異を利用した育種は、大きな生物集団と、長い時間が必要となる。本発明の方法は、天然の方法とは異なり、生物集団としては小さな集団のみで十分であり、時間も一世代～数世代程度しか必要ではなく、その効果は絶大である。

## 【0307】

また、部位特異的変異誘発は、決められた変異しか誘発することができず、確実性という点では優れているが、大規模な変異誘発には向いておらず、変異の性質は、生物全体に及ぶものではないことから、必ずしも有益変異とはいえない。従って、天然の進化をまねたものとはいえず、いわゆる遺伝子組み換えによる有害効果が伴うという欠点が存在する。本発明は、結果得られるものがそのような人為的変異誘発ではなく、天然に得られるものと同じであるという特性がある。

## 【0308】

他の変異誘発法として、放射線、変異原物質などを用いる方法は、天然の変異と比べて高い頻度で変異を発生させることが可能であるが、有効な線量で放射線を照射した細胞、有効な濃度で変異原物質処理を施した細胞のほとんどが死滅する。すなわち、有害変異が致死量に達することを意味する。また、このような変異原を用いる方法では、有害変異を伴わずに変異誘発することは不可能である。本発明の方法は、このような方法に比べて、有害変異をほとんど伴わず、生物集団としては小さな集団のみで十分であり、時間も一世代～数世代程度しか必要ではないという効果を有する。

## 【0309】

本発明のディスパリティ理論を利用した遺伝形質の変換速度の調節法では、校正機能が調節されたDNAポリメラーゼなどを利用することによって、二本鎖ゲノムDNAの一方の鎖に他方の鎖よりも多く変異が導入される。本発明では、有害変異の蓄積を避けて、複数の有益変異を蓄積することが本発明において初めて実験レベルで実証された。従って、本発明は、理論では変異が多数導入されることが予測されていたものの、その変異にともなうその生物の正常な成長（代謝など）が保たれないとの予測を覆すという意味で画期的な発明といえる。特に、真核生物は、複数の両方向性の複製開始点を有する。ゲノムDNAに両方向性の複製開始点があるとき、ディスパリティ法では、有害変異の蓄積を避けて、複数の有益変異を蓄積することはできない。このような真核生物においても、本発明の方法において、有害変異の蓄積を避けて、複数の有益変異を蓄積することが実証された。

## 【0310】

好ましい実施形態では、ラギング鎖およびリーディング鎖の一方のみに機能する、校正機能が変化したDNAポリメラーゼを導入することが有利であり得る。

## 【0311】

本発明によって達成される良い育種とは、高速な生物進化を実現することであると考えられる。高速な生物進化には、通常、集団の大きな遺伝的多様性と同時に、有益な変異型の安定な増幅が必要である。安定な増幅は、正確なDNA複製によって達成され、同時に、遺伝的多様性は、DNA複製のエラーによって生じる変異によって達成される。

## 【0312】

本発明がもたらす効果は、真核生物においてもまた、高速な進化を達成することができた点にある。真核生物は、明確な核構造を持ち、ゲノムが複数の染色体から構成されているという点で大腸菌とは異なる。従って、本発明は、従来技術からは予測できない効果を奏するといえる。また、仮に大腸菌での進化速度の調節ができたとしても、真核生物については、本明細書の実施例に実証されるまでは予測できなかったといえる。

## 【0313】

1つの実施形態において、本発明の方法におけるエラープロン頻度を調節する工程は、生物のDNAポリメラーゼのエラープロン頻度を調節することを包含する。対象となる生物中のDNAポリメラーゼのエラープロン頻度の調節は、生物中に存在するDNAポリメラーゼを直接改変するか、あるいは、エラープロン頻度が変化するように改変したDNAポリメラーゼを生体外から導入することによって行われ得る。このようなDNAポリメラーゼの改変は、当該分野において周知の分子生物学における技術などを用いて行い得る。そのような技術は、本明細書において他の場所において記載したとおりである。DNAポリメラーゼの直接の改変は、例えば、すでに変異が導入されているその生物の株を掛け合わせることを利用する方法などが挙げられるがそれに限定されない。

## 【0314】

別の実施形態において、DNAポリメラーゼは、校正機能を有する。対象となる生物中には、通常校正機能を有するDNAポリメラーゼが存在する。そのような校正機能を有するDNAポリメラーゼとしては、例えば、DNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ 、DnaQ、DNAポリメラーゼ $\beta$ 、 $\theta$ 、 $\lambda$ （修復機能を持つもの）が挙げられるがそれらに限定されない。DNAポリメラーゼの校正機能の調節は、生物中に存在するDNAポリメラーゼを直接改変するか、あるいは、校正機能が変化するように改変したDNAポリメラーゼを生体外から導入することによって行われ得る。このようなDNAポリメラーゼの改変は、当該分野において周知の分子生物学における技術などを用いて行い得る。そのような技術は、本明細書において他の場所において記載したとおりである。DNAポリメラーゼの直接の改変は、例えば、すでに校正機能を有するDNAポリメラーゼに変異が導入されているその生物の株を掛け合わせることを利用する方法などが挙げられるがそれに限定されない。好ましくは、プラスミドに改変体DNAポリメラーゼをコードする核酸分子を含ませ、このプラスミドを生物に導入することなどの一過的に発現させることが好ましい。プラスミドなどの一過的発現の特徴を利用することによって、プラスミドなどを消失させた後は、遺伝形質の変換速度の調節が必要とされなくなった後、野生型と同じ変換速度に戻すことが可能

であるからである。

#### 【0315】

別の実施形態において、本発明において利用されるDNAポリメラーゼは、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ ならびにそれに対応するDNAポリメラーゼからなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼを含む。ここで、1つの別の好ましい実施形態において、本発明において利用されるDNAポリメラーゼは、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ ならびにそれに対応するDNAポリメラーゼからなる群より選択される一方のみが改変の対象とされることが有利であり得る。一方のみのエラープロン頻度を調節することによって、一度現れた遺伝子型（野生型も含まれる）が保存される；高い変異率が許容され得る；ゲノムにおいて、広領域（遺伝子群）の改良が可能となること；形質の元本保証と多様性拡大の実現が可能となること；進化が従来にない速度へと加速され得ること；変異形質が安定であるという性質という効果が得られるからである。

#### 【0316】

別の実施形態において、本発明におけるエラープロン頻度の調節は、真核生物におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ ならびにそれに対応するDNAポリメラーゼからなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼの校正活性を調節することを包含する。このような校正活性の調節は、このようなポリメラーゼの3'  $\rightarrow$  5' エキソヌクレアーゼ活性中心（あるいは、Exo Iモチーフ、校正機能活性部位）（例えば、ヒトDNAポリメラーゼ $\delta$ では316番目のアスパラギン酸および318番目のグルタミン酸ならびにその周辺部位）の改変が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0317】

本発明の好ましい実施形態において、このようなエラープロン頻度の調節は、エラープロン頻度を野生型よりも上げることを包含する。エラープロン頻度を野生型よりも上昇させることによって、生物にとって有害な効果を伴わずに、生物の遺伝形質変換速度すなわち進化速度が上昇した。このような効果は、従来予測されておらず、本発明は、優れた効果を奏するといえる。

## 【0318】

別の好ましい実施形態において、本発明において用いられるDNAポリメラーゼの校正機能は、野生型のものよりも低い。そのようなDNAポリメラーゼは、天然に存在するものを利用してもよいし、本明細書においてすでに述べたようにDNAポリメラーゼを改変することによって達成してもよい。

## 【0319】

1つの実施形態において、本発明において用いられる（改変型）DNAポリメラーゼの校正機能は、野生型DNAポリメラーゼよりも少なくとも1つの塩基配列多い変異が含まれるように校正する機能であることが有利である。野生型DNAポリメラーゼよりも少なくとも1塩基配列多い変異が含まれることによって、生物にとって有害な効果を伴わずに、生物の遺伝形質変換速度すなわち進化速度が上昇した。このような遺伝形質変換速度は、野生型DNAポリメラーゼがもたらすものより生じる変異の塩基数が多い方が速い傾向がある。従って、変換速度を上げる場合は、校正機能をさらに低下させることが好ましい。このような校正機能をアッセイする方法は、当該分野において公知であり、例えば、対象となるDNAポリメラーゼを適切なアッセイ系（複製産物の塩基配列決定による判定；校正活性の測定による判定）において用いて得られる生成物を例えば、直接または間接的に配列決定する（例えば、配列決定機によるかあるいはDNAチップを用いる）ことによって判定することができる。

## 【0320】

別の好ましい実施形態において、本発明において用いられるDNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも1つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能であることが有利である。野生型のDNAポリメラーゼは通常、結果として得られる生成物における塩基配列に変異は含まれていないことが多い。従って、そのような場合、本発明において用いられるDNAポリメラーゼの改変体は、少なくとも1つの塩基配列の変異を含ませるように校正機能が低下していることが必要であり得る。そのような校正機能もまた、上述のアッセイ系を用いて測定することができる。より好ましくは、本発明において利用されるDNAポリメラーゼの校正機能は、少なくとも2つの塩基配列の変異が含まれるように校正する機能

であり、さらに好ましくは、10%の塩基配列の変異が含まれるように校正する機能であり、なおさらに好ましくは、100%の塩基配列の変異が含まれるように校正する機能であり得る。校正機能が低下し含まれる塩基配列の変異がより多くなるほど、生物の遺伝形質変換速度すなわち進化速度がより速くなると考えられる。

### 【0321】

別の実施形態において、本発明において利用されるDNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-6}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能である。通常、天然に存在する生物は、 $10^{-12} \sim 10^{-8}$ の割合で変異を誘発することから、本発明では、このように有意に校正機能が低下したDNAポリメラーゼを使用することが好ましい。より好ましくは、本発明のDNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-3}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能であり、さらに好ましくは、本発明のDNAポリメラーゼの校正機能は、 $10^{-2}$ の割合で塩基配列の変異が含まれるように校正する機能であることが有利であり得る。校正機能が低下し生成する塩基配列の変異頻度が多くなるほど、生物の遺伝形質変換速度すなわち進化速度がより速くなると考えられる。

### 【0322】

ある実施形態において、本発明が対象とする生物は、真核生物であり得る。真核生物は、大腸菌とは異なり、校正機能が付与されるメカニズムが全く異なる。従って、進化速度を論じる場合にも大腸菌をモデルにした場合とは全く異なる説明が必要であり、予測ができないが、本発明では、予想外にも、真核生物を含むすべての生物において、生物の遺伝形質の変換速度すなわち進化速度を調節することが可能であるということが実証された。従って、本発明は、従来技術からは予測不可能であった効果を奏するといえる。特に、真核生物において進化速度調節が可能となったことによって、進化の機構解明；ゲノムと形質との関係の解明；動物および植物を含む種々の高等生物の改良；現存生物の進化能力の検索；未来生物の予測；モデル疾患動物の作製などの種々の適用が達成された。本発明が対象とする真核生物は、特に限定されないが、例えば、酵母のような単細胞生物、動物および植物のような多細胞生物が挙げられるがそれらに限定されない。そ

のような生物の例としては、例えば、メクラウナギ類、ヤツメウナギ類、軟骨魚類、硬骨魚類、哺乳綱（例えば、単孔類、有袋類、貧歯類、皮翼類、翼手類、食肉類、食虫類、長鼻類、奇蹄類、偶蹄類、管歯類、有鱗類、海牛類、クジラ目、霊長類、齧歯類、ウサギ目など）、鳥綱、爬虫綱、両生綱、昆虫綱、蠕虫綱、双子葉植物、単子葉植物（例えば、コムギ、トウモロコシ、イネ、オオムギ、ソルガムなどのイネ科植物）、シダ植物、コケ類、真菌類、藍藻類などが挙げられるがそれらに限定されない。好ましくは、本発明が対象とする生物は、多細胞生物であり得る。別の好ましい実施形態では、本発明が対象とする生物は、単細胞生物であり得る。他の好ましい実施形態では、本発明が対象とする生物は、動物、植物または酵母であり得る。1つのより好ましい実施形態では、本発明が対象とする生物は、哺乳動物であり得るがそれらに限定されない。

#### 【0323】

1つの好ましい実施形態において、本発明の方法によって得られた改変生物は、所望の形質の変換後も、野生型と実質的に同じ成長を示す。このような性質は、本発明がもたらす、有害効果を伴わない遺伝形質の変換速度の調節によって初めて得られるものである。このような性質は、従来の変異誘発方法では達成不可能な特徴であり、このような性質もまた、本発明がもたらす有利な効果といえる。このように野生型と実質的に同じ成長を示すという特徴を有することによって、野生型と同じように扱うことができる。

#### 【0324】

別の実施形態において、本発明の方法によって改変された生物は、その生物が改変前において（すなわち野生型において）耐性を有していなかった環境に対する耐性を示すこともまた1つの特徴であり得る。そのような環境としては、例えば、温度、湿度、pH、塩濃度、栄養、金属、ガス、有機溶媒、圧力、気圧、粘性、流速、光度、光波長、電磁波、放射線、重力、張力、音波、対象となる生物とは異なる他の生物（例えば、寄生虫）、化学薬品、抗生物質、天然物、精神的ストレスおよび物理的ストレスからなる群より選択される少なくとも1つの因子をパラメータとして包含する。

#### 【0325】



ここで、温度としては、例えば、高温、低温、超高温（例えば、95℃など）、超低温（例えば、-80℃など）、150～-270℃のような広汎な温度が挙げられるがそれらに限定されない。

【0326】

湿度としては、例えば、相対湿度100%、相対湿度0%など0～100%の間の任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

【0327】

pHとしては、例えば、0～14の任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

【0328】

塩濃度としては、例えば、NaCl濃度（3%など）、他の塩の塩濃度0～100%のうちの任意の点が挙げられるがそれらに限定されない。

【0329】

栄養としては、例えば、タンパク質、グルコース、脂質、ビタミン、無機塩等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0330】

金属としては、例えば、重金属（例えば、水銀、カドミウムなど）、鉛、金、ウラン、銀が挙げられるがそれらに限定されない。

【0331】

ガスとしては、例えば、酸素、窒素、二酸化炭素、一酸化炭素、一酸化窒素、およびそれらの混合物などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0332】

有機溶媒としては、例えば、エタノール、メタノール、キシレン、プロパノールなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0333】

圧力としては、例えば、0～10トン/cm<sup>2</sup>の任意の点などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0334】

気圧としては、例えば、0～100気圧の任意の点などが挙げられるがそれら

に限定されない。

【0335】

粘性としては、例えば、水、グリセロールなど任意の流体またはそれらの混合物中の粘性が挙げられるがそれらに限定されない。

【0336】

流速としては、例えば、0～光速の任意の点などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0337】

光度としては、例えば、暗黒～太陽光の間の一点などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0338】

光波長としては、例えば、可視光線、紫外線（UV-A、UV-B、UV-C など）、赤外線（遠赤外線、近赤外線など）などの任意の波長が挙げられるがそれらに限定されない。

【0339】

電磁波としては、任意の波長のものが挙げられる。

【0340】

放射線としては、任意の強度のものが挙げられる。

【0341】

重力としては、地球上の任意の重力または無重力～地球上の重力の間の1点、あるいは地球上の重力以上の任意の一点が挙げられるがそれらに限定されない。

【0342】

張力としては、任意の強度のものが挙げられる。

【0343】

音波としては、任意の強度および波長のものが挙げられる  
対象となる生物とは異なる他の生物としては、例えば、寄生虫、病原菌、昆虫、線虫が挙げられるがそれらに限定されない。

【0344】

化学薬品としては、例えば、塩酸、硫酸、苛性ソーダが挙げられるがそれらに

限定されない。

【0345】

抗生物質としては、例えば、ペニシリン、カナマイシン、ストレプトマイシン、キノロン等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0346】

天然物としては、例えば、ふぐ毒、蛇毒、アルカロイド等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0347】

精神的ストレスとしては、例えば、飢餓、密度、閉所、高所が挙げられるがそれらに限定されない。

【0348】

物理的ストレスとしては、例えば、振動、騒音、電気、衝撃が挙げられるがそれらに限定されない。

【0349】

別の実施形態では、本発明の方法が対象とする生物は、がん細胞を有する。本発明の方法によって達成されるがんモデル生物は、従来の方法とは異なり、天然に生じるがんと同じメカニズムで生じることから、真の意味でのがんモデル生物であると見なすことができる。従って、このようなモデル生物は、医薬品の開発に特に有用である。

【0350】

別の局面において、本発明は、遺伝形質が調節された生物を生産する方法を提供する。この方法は、(a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程；および (b) 得られた生物を再生産する工程、を包含する。ここで、遺伝形質の変換速度の調節に関連する技術は、上述のものを利用することができる。従って、生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程は、本明細書において上述の技術を利用することができる。

【0351】

得られた生物を再生産する工程もまた、いったん遺伝形質が調節された生物が得られたならば、当該分野において公知のどのような方法を用いて再生してもよ

い。そのような再生産の技術としては、例えば、生殖、繁殖など天然現象によるもの、クローン技術などの人工技術、植物培養細胞からの個体再生産

などによるものが包含されるがそれらに限定されない。そのような技術を使用したかどうかは、例えば、塩基配列決定による確認、抗原性等の同定、ベクターを用いる場合のベクター検出、形質の後戻り実験、高変異と非障害性との両立をみることによって確認することができる。このような実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

### 【0352】

好ましい実施形態では、本発明の生物再生産方法では、再生産した生物のうち、所望の形質を有する個体を選択する工程をさらに包含する。このような所望の形質を有する個体の選択は、生物の遺伝形質（例えば、上記種々の環境に対する耐性など）で行ってもよいし、遺伝子レベルで行ってもよいし、代謝物レベルで行ってもよい。そのような選択の確認には、種々の技術を用いることができ、例えば、肉眼による観察、配列決定、種々の生化学試験、顕微鏡観察、染色、免疫反応、行動解析などが挙げられるがそれらに限定されない。このような実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

### 【0353】

別の局面において、本発明は、本発明によって生産された、遺伝形質が調節された生物を提供する。このような生物は、従来の技術では達成され得なかった進化速度によって得られる生物であることから、その生物の存在自体が新規であることは明らかである。そのような生物の特徴としては、例えば、高変異と非障害性との両立；SNPs（一塩基置換）の分布に偏りがある；同じゲノム領域でも、個体によって変異の蓄積の仕方が異なる傾向を示す（特に選択圧のかからない領域において著しい；同一個体の精子のゲノムの特定領域（特に冗長な部分）の変異の分布はランダムではなく、著しい偏りを示す、などの特異的な特徴が挙げられるがそれらに限定されない。本発明の生物は、好ましくは、野生型と実質的に同じ成長を示す。急激な変異誘発を受けた生物は、通常野生型と同じ成長を示

すことはあり得ない。しかし、本発明で得られる生物は、野生型と実質的に同じ成長を示すことが可能である。従って、本発明は、そのような意味でも優れた効果を奏する。このような性質を確認する実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

#### 【0354】

別の局面において、本発明は、遺伝形質が調節された遺伝子をコードする核酸分子を生産する方法を提供する。この方法は、(a) 生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；(b) 得られた該生物を再生産する工程；(c) 該生物において変異を同定する工程；および(d) 同定された変異を含む遺伝子をコードする核酸分子を生産する工程、を包含する。ここで、エラープロン頻度の変化および得られた生物の再生産に関する技術は、本明細書において上述したとおりであり、当業者は適宜本明細書の記載に従って、その実施形態を選択し本発明実施することができる。

#### 【0355】

生物における変異の同定もまた、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そのような同定技術としては、例えば、配列決定、PCR、サザンブロッティングなどの分子生物学的技術、ウェスタンブロッティングのような免疫化学的技術、顕微鏡観察、肉眼観察など、種々の方法があるがそれらに限定されない。

#### 【0356】

同定された変異を含む遺伝子をコードする核酸分子の生産もまた、いったん変異を担う遺伝子が同定されたならば、当業者は当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そのような生産としては、例えば、ヌクレオチド合成機による合成、PCRなどによる半合成法などが挙げられるがそれらに限定されない。そのように合成した核酸分子が目的の配列を有するかどうかは、当該分野において周知の技術を用いて、配列決定することによってあるいはDNAチップなどの技術を用いて確認することができる。

#### 【0357】

従って、本発明はまた、本発明の方法によって生産された、核酸分子を提供す

る。このような核酸分子もまた、従来の技術では達成され得なかった進化速度によって得られる生物に由来する遺伝子であることから、その遺伝子をコードする核酸分子の存在自体が新規であることは明らかである。そのような核酸分子の特徴としては、例えば、SNPsの分布に偏りがある；ゲノムに変異が多く蓄積している領域とそうでない領域がモザイク状に分布する傾向を示す；同じゲノム領域でも、個体によって変異の蓄積の仕方が異なる傾向を示す（特に選択圧のかからない領域において著しい）；同一個体の精子のゲノムの特定領域（特に冗長な部分）の変異の分布はランダムではなく、著しい偏りを示すなどの特異的な特徴が挙げられるがそれらに限定されない。このような性質を確認する実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

#### 【0358】

別の局面において、本発明は、遺伝形質が調節された遺伝子がコードするポリペプチドを生産する方法を提供する。この方法は、（a）生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を变化させる工程；（b）得られた該生物を再生産する工程；（c）該生物において変異を同定する工程；および（d）同定された変異を含む遺伝子がコードするポリペプチドを生産する工程、を包含する。ここで、エラープロン頻度の变化および得られた生物の再生産に関する技術は、本明細書において上述したとおりであり、当業者は適宜本明細書の記載に従って、その実施形態を選択し本発明実施することができる。

#### 【0359】

生物における変異の同定もまた、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そのような同定技術としては、例えば、配列決定、PCR、サザンブロットティングなどの分子生物学的技術、ウェスタンブロットティングのような免疫化学的技術、顕微鏡観察、肉眼観察など、種々の方法があるがそれらに限定されない。

#### 【0360】

同定された変異を含む遺伝子がコードするポリペプチドの生産もまた、いったん変異を担う遺伝子が同定されたならば、当業者は当該分野において周知の技術

を用いて行うことができる。そのような生産としては、例えば、ペプチド合成機による合成、遺伝子操作技術を用いて上記遺伝子をコードする核酸分子を合成し、その核酸分子で細胞を形質転換しその遺伝子を発現させ、発現産物を回収すること、あるいは改変された生物自体から精製することによって得る方法などが挙げられるがそれらに限定されない。そのように得られたポリペプチドが目的の配列を有するかどうかは、当該分野において周知の技術を用いて、配列決定することによってあるいはプロテインチップなどの技術を用いて確認することができる。

### 【0361】

別の局面において、本発明は、本発明の方法によって生産された、ポリペプチドを提供する。このようなポリペプチドもまた、従来の技術では達成され得なかった進化速度によって得られる生物に由来する遺伝子がコードするものであることから、その遺伝子がコードするポリペプチドの存在自体が新規であることは明らかである。そのようなポリペプチドの特徴としては、例えば、SNPsの分布に偏りがある；ゲノムに変異が多く蓄積している領域とそうでない領域がモザイク状に分布する傾向を示す；同じゲノム領域でも、個体によって変異の蓄積の仕方が異なる傾向を示す（特に選択圧のかからない領域において著しい；などという遺伝形質を反映したアミノ酸配列となっているポリペプチドとしての顕著な特徴が挙げられるがそれらに限定されない。このような性質を確認する実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

### 【0362】

別の局面において、本発明は、遺伝形質が調節された生物の代謝物を生産する方法を提供する。この方法は、（a）生物の遺伝子の複製におけるエラープロン頻度を変化させる工程；（b）得られた該生物を再生産する工程；（c）該生物において変異を同定する工程；および（d）同定された変異を含む代謝物を生産する工程、を包含する。ここで、エラープロン頻度の変化および得られた生物の再生産に関する技術は、本明細書において上述したとおりであり、当業者は適宜本明細書の記載に従って、その実施形態を選択し本発明実施することができる。

る。

#### 【0363】

ここで、本明細書において「代謝物」とは、細胞において細胞の生存活動（代謝）によって得られる分子をいう。そのような代謝物としては、例えば、アミノ酸、脂肪酸およびその誘導体、ステロイド、単糖、プリン、ピリミジン、ヌクレオチド、核酸、タンパク質などの化合物が挙げられるがそれらに限定されない。また、これらの高分子化合物を加水分解により分解して得られる物質、炭水化物または脂肪酸を酸化して得られる物質なども代謝物という。代謝物は、細胞内に存在することもあり、細胞外に排出されることもある。

#### 【0364】

本発明の方法において、生物における変異の同定もまた、当該分野において周知の技術を用いて行うことができる。そのような同定技術としては、例えば、代謝物の同定（成分分析など）、配列決定、PCR、サザンブロッティングなどの分子生物学的技術、ウェスタンブロッティングのような免疫化学的技術、顕微鏡観察、肉眼観察など、種々の方法があるがそれらに限定されない。代謝物の同定技術は、代謝物に応じて当業者が適宜選択することができる。

#### 【0365】

別の局面において、本発明は、本発明の方法によって生産された代謝物を提供する。このような代謝物もまた、従来の技術では達成され得なかった進化速度によって得られる生物に由来するものであることから、その代謝物の存在自体が新規であることは明らかである。そのような代謝物の特徴としては、例えば、自己に対して毒性を及ぼしにくい；未来の代謝物を先取りしているなどの特徴が挙げられるがそれらに限定されない。このような性質を確認する実験は、当該分野において公知であり、本明細書の記載に基づいて当業者は容易に実施することができる。

#### 【0366】

別の局面において、本発明は、生物の遺伝形質を調節するための核酸分子を提供する。この該核酸分子は、エラープローン頻度を調節されたDNAポリメラーゼをコードする核酸配列を含む。このようなDNAポリメラーゼは、真核生物に



におけるDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ ならびにそれに対応するDNAポリメラーゼからなる群より選択される少なくとも1つのポリメラーゼにおいて、校正活性が調節されたDNAポリメラーゼであつてもよい。このような校正活性の調節は、このようなポリメラーゼの3'  $\rightarrow$  5' エキソヌクレアーゼ活性中心（あるいは、Exo Iモチーフ、校正機能活性部位）（例えば、ヒトDNAポリメラーゼ $\delta$ では316番目のアスパラギン酸および318番目のグルタミン酸ならびにその周辺部位）の改変が挙げられるがそれらに限定されない。

#### 【0367】

好ましくは、本発明の核酸分子に含まれるDNAポリメラーゼをコードする配列は、DNAポリメラーゼ $\delta$ または $\epsilon$ をコードすることが有利である。このようなDNAポリメラーゼは、校正機能を天然に有しているからであり、そのような機能を改変することが比較的容易であるからである。

#### 【0368】

別の局面において、本発明は、本発明の生物の遺伝形質を調節するための核酸分子を含む、ベクターを提供する。このようなベクターは、プラスミドベクターであつてもよい。このようなベクターは、好ましくは、プロモーター配列、エンハンサー配列などを適宜含み得る。このようなベクターは、生物の遺伝形質を調節するためのキットの構成要件として含まれたり、販売されてもよい。

#### 【0369】

他の局面において、本発明は、生物の遺伝形質を調節するための核酸分子を含む、細胞を提供する。このような細胞には、本発明の核酸分子は、ベクターの形態で含まれてもよいが、必ずしもそうでなくてもよい。このような細胞は、生物の遺伝形質を調節するためのキットの構成要件として含まれたり、販売されてもよい。好ましい実施形態では、この細胞は、真核生物細胞であることが有利であり得るが、それに限定されない。単に核酸分子を増幅するための目的に使用される場合は、原核生物細胞が使用されること好ましいことがあり得る。

#### 【0370】

別の局面において、本発明は、生物の遺伝形質を調節するための核酸分子を含む、生物を提供する。このような生物は、生物の遺伝形質を調節するためののキ

ットの構成要件として含まれていてもよい。

#### 【0371】

別の局面において、本発明は、本発明の方法によって得られる生物またはその一部（例えば、臓器、組織、細胞など）が生産する、生産物質を提供する。本発明によって得られる生物またはその一部は、従来方法では得られなかった生物を提供することから、その生産物質は、新規物質を含み得る。

#### 【0372】

別の局面において、本発明は、本発明の生物を病態モデルとして使用して薬剤の効果を試験する工程、コントロールとして野生型の生物を使用して薬剤の効果を試験する工程、および該病態モデルと該コントロールとの対比を行う工程を包含する、薬剤の試験方法を提供する。このような病態モデルは、従来の方法では達成できなかった自然病態発生モデルであることから、それを用いた薬剤の試験方法では、従来方法で生えられなかった天然での試験に近い結果が得られ、その信頼性が高くなることになる。従って、医薬などの開発期間が有意に短縮できるという効果を奏する。あるいは、得られた結果における副作用などの有害情報の精度が高まるという効果も得られ得る。

#### 【0373】

本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考として援用される。

#### 【0374】

以上、本発明を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本発明を限定する目的で提供したのではない。従って、本発明の範囲は、本明細書に具体的に記載された実施形態にも実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。

#### 【0375】

##### 【実施例】

以下に実施例を示して本発明をさらに詳しく説明するが、この発明は以下の例

に限定されるものではない。以下の実施例において用いられる試薬、支持体などは、例外を除き、Sigma (St. Louis, USA、和光純薬 (大阪、日本) などから市販されるものを用いた。以下において使用した動物は、日本の大学において規定される飼育規準を遵守して飼育および実験した。

#### 【0376】

(実施例 1: 酵母を用いた、薬剤耐性株および高温耐性株の作製)

本実施例では、真核生物の代表例として、酵母を用い本発明による不均衡変異酵母の遺伝形質の変換速度の調節を実証した。

#### 【0377】

不均衡変異の育種分野への有用性を確認するために薬剤耐性能、高温耐性能を持つ酵母の育種を行った。

#### 【0378】

校正機能の調節は、DNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ の校正機能 (Alan Morrison, Akio Sugino, Mol Gen Genet (1994) 242:289-296) に変異を導入することによって行った。

#### 【0379】

(材料)

本実施例では、対象生物として酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた。正常株として、AMY52-3D:MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 ade2-1 his1-7 hom3-10 trp1-289 canR (大阪大学杉野教授より入手) を用いた。その作製方法は以下のとおりである。

#### 【0380】

酵母の正常株として、菌株保存センター (ATCC; American Type Culture Collection) からMYA-868 (CG378) を入手した。

#### 【0381】

エラープロン頻度の調節は、DNAポリメラーゼ $\delta$ または $\epsilon$ の校正機能の変更によって行った。校正機能の変更は、不均衡変異株 (DNAポリメラーゼ $\delta$ ま

たは $\epsilon$ の校正部分に欠失を持つ菌株を作製することによって行った。変異株は、この正常株において、DNAポリメラーゼ $\text{pol } \delta$ 、 $\text{pol } \epsilon$ の特定部位 ( (1) Morrison. A, Sugino. A, Mol Gen Genet (1994) 242:289-296) を定法 ( Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版 Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, N. Y. 1989)、前出) に従って、部位特異的変異誘発 (site directed mutagenesis) を用いて塩基の置換を行い作製した。具体的には $\text{pol } \delta$ では、322 (D)  $\rightarrow$  (A), 324 (E)  $\rightarrow$  (A)、 $\text{pol } \epsilon$ では、291 (D)  $\rightarrow$  (A), 293 (E)  $\rightarrow$  (A) へと変換した。これをDNAポリメラーゼ $\delta$ 変異株 (AMY128-1: Pol3-01 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-1 his1-7 hom3-10 trp1-289 canR; 大阪大学杉野教授より入手、DNAポリメラーゼ $\epsilon$ 変異株 (AMY2-6: pol2-4 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-6 his1-7 hom3-10 try1-289 canR; 大阪大学杉野教授より入手) として用いた。

### 【0382】

(方法一薬剤耐性株の作製)

上記3株を完全培地 (YPD培地: 10g Yeast Extract (Difco), 20g BactoPepton (Difco), 20g Glucose (和光)) を含む寒天平板培地に撒き、単一コロニーをランダムに各5個ずつ集めた。これらをYPD液体培地3mlに植え、30℃で振蕩培養し終濃度約 $1 \times 10^6$ まで増やした。

### 【0383】

これらを、1ミリグラム/リットルのシクロヘキシミド (Sigma, St Louis, MO, USA) を含むYPD平板培地に希釈して植菌した。対照として薬剤を含まないYPD平板培地に植菌した。2日間30℃で培養し、生じたコロニー数を計数した。

## 【0384】

(方法—高温耐性株の取得)

上記3株の単一コロニーから液体培養にて順次培養温度を上げていき馴養した。馴養は次の通りに行った。

## 【0385】

37℃2日 → 28℃1日 → 38℃2日 → 28℃1日 → 39℃2日 → 28℃1日 → 40℃2日 → 28℃1日 最後の培養を冷蔵保存(「馴養済み培養」)。

## 【0386】

(成長曲線の測定)

完全液体培地(YPD)中にて振蕩培養した。成長すなわち細胞密度の測定は530nmの吸光度(OD)を指標にして行った。吸光度は分光光度計(日立)を用いて測定した。正常株および薬剤変異株の成長曲線のための実験は28℃、高温耐性株の成長曲線は38.5℃にて行った。

## 【0387】

(結果—薬剤耐性株)

薬剤を含まない培地で増殖させる間にシクロヘキシミド耐性菌がDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ 変異株では出現したが、野生型では現れなかった。

## 【0388】

【表 1】

表1. シクロヘキシミド耐性コロニー数

	出現コロニー数*					平均
pol $\delta$	60	81	81	111	744	215
pol $\epsilon$	3	39	138	0	0	36
WT	0	0	0	0	0	0

平均生菌数、pol  $\delta$  7.3、pol  $\epsilon$  10.0、WT10.0  $\times 10^6$ 個  
当り

$\delta$  変異株から得られた耐性株は、10ミリグラム／リットルのシクロヘキシミドまで生育することができることを観察した。

【0389】

野生型、変異株の成長特性を比較したが、増殖速度に違いはなかった（表2および図1を参照）。

【0390】

【表 2】

表2. Pol  $\delta$ 、pol  $\epsilon$  変異株の成長曲線

増殖時間	pol $\delta$	pol $\epsilon$	WT
0	0.13	0.13	0.13
2	0.9	0.8	0.9
4	2.2	2.1	2.1
6	4.1	4.0	4.1
8	5.9	5.7	6.0
10	7.9	7.8	8.1
12	10.5	10.8	11.1
22	20.1	19.8	21.7
32	19.6	19.5	20.3
44	18.9	19.2	19.8

(hr)

OD:530nm

(結果—高温耐性株)

馴養済み培養を 40℃にて2日間培養した後平面寒天培地に植菌し、38.5℃にて培養した。親株は高温ではまったく生育できないが、変異株は生育することを確認した(図3および4=写真)。

【0391】

野生株、変異株の高温下での成長特性を比較したが、野生株では増殖の停止が確認された(表3および図2を参照)。

【0392】

【表 3】

表3. 高温耐性株の成長曲線

増殖時間	クローン 1	クローン 2	WT
0	0.131	0.125	0.134
2	0.154	0.174	0.177
4	0.203	0.227	0.264
6	0.258	0.314	0.327
8	0.327	0.447	0.365
10	0.462	0.6	0.358
16	0.93	1.12	0.352
22	1.463	1.486	0.346

(hr)

OD:530nm

クローン1: pol  $\delta$  由来耐性株クローン 2: pol  $\epsilon$  由来耐性株

酵母は、原核生物と異なる遺伝子複製機構を有することから、本発明のエラープローン頻度調節による遺伝形質の変換速度の調節をその生物の生存に影響を与えることなく行うことができるか不明であった。

## 【0393】

本実施例により、真核生物である酵母でも、エラープローン頻度調節による遺伝形質の変換速度の調節により、その生存に影響を与えることなく、生物の遺伝形質の変換速度を調節することができることが実証された。

## 【0394】

(実施例2: プラスミドを用いた変異導入)

本実施例では、プラスミドベクター（「不均衡変異誘導プラスミド」）を用いた真核生物への遺伝形質の変換速度の調節を実証した。

## 【0395】

校正機能の調節は、実施例1と同様、DNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ の校正機能 (Alan Morrison, Akio Sugino, Mol Gen Genet (1994) 242: 289-296) に変異



を導入することによって行った。

### 【0396】

変異DNAポリメラーゼ ( $\rho$ ol)  $\delta$ またはDNAポリメラーゼ  $\epsilon$ を発現するプラスミドベクターを作製した。ベクターを酵母細胞へトランスフェクトし形質転換させ、突然変異を生じさせ、シクロヘキシミド等薬剤を含む平板培地にて培養し、出現する薬剤耐性コロニーを計測した。

### 【0397】

(材料)

本実施例では、対象生物として酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた。正常株として、AMY52-3D:MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 ade2-1 his1-7 hom3-10 trp1-289 canR (ATCC、前出) を用いた。エラープローン頻度の調節は、変異型DNAポリメラーゼ  $\delta$ または  $\epsilon$ を野生型正常株に導入することによって行った。

### 【0398】

変異型DNAポリメラーゼ  $\delta$ および  $\epsilon$ をコードする配列は、実施例1で用いたDNAポリメラーゼ  $\delta$ 変異株 (AMY128-1:Pol3-01 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-1 his1-7 hom3-10 trp1-289 canR)、DNAポリメラーゼ  $\epsilon$ 変異株 (AMY2-6:pol2-4 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-6 his1-7 hom3-10 try1-289 canR) から生産した。

### 【0399】

使用したプラスミドベクターは、プロモーターとしてGalを含み、そのプロモーターに作動可能に変異型DNAポリメラーゼ  $\delta$ または  $\epsilon$ をコードする核酸配列 (配列番号33および35) をそれぞれ連結したものを含んだ。

### 【0400】

(方法)

(ベクターの作製)

分子生物学に関する技術は、本質的に、Sambrook, J., et al., 前出に基づいた。pol $\delta$ 、pol $\epsilon$ 変異株 (DNAポリメラーゼ $\delta$ 変異株 (AMY128-1: Pol3-01 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-1 his1-7 hom3-10 trp1-289 canR)、およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ 変異株 (AMY2-6: pol12-4 MAT $\alpha$ , ura3-52 leu2-1 lys1-1 ade2-6 his1-7 hom3-10 try1-289 canR)) より pol 部位をPCR法にて増幅させ pol $\delta$ 、pol $\epsilon$ を回収する。pol 部位の回収に使用したプライマーは、以下の配列である:

正方向 (pol $\delta$  (forward)): 配列番号37: 5' -CCCGAGC TCATGAGTGAAAAAGATCCCTT- ' 3 ( $\delta$ )

逆方向 pol3 (reverse): 配列番号38: 5' -CCCGCGGCC GCTTACCATTTGCTTAATTGT- ' 3 ( $\delta$ )

正方向 pol $\epsilon$  (forward): 配列番号39: 5' -CCCGAGCTC ATGATGTTTGGCAAGAAAAAA- ' 3 ( $\epsilon$ )

逆方向 pol2 (reverse): 配列番号40: 5' -CCCGCGGCC GCTCATATGGTCAAATCAGCA- ' 3 ( $\epsilon$ )

このPCR産物をGALプロモーターを持つベクターへ挿入する。

#### 【0401】

(形質転換)

このプラスミドベクターは、リン酸カルシウム法にて酵母の正常株中へトランスフェクトする。

#### 【0402】

(変異導入)

形質転換した酵母を48～72時間ガラクトースを含む液体培地にて28℃にて振蕩培養する。

#### 【0403】

(薬剤耐性の確認)

シクロヘキシミドを含む平板培地 (含ガラクトース) にて24時間、28℃にて

培養。生育してきたコロニー数を計測する。

#### 【0404】

(結果)

薬剤を含まない培地で増殖させる間にシクロヘキシミド耐性菌がDNAポリメラーゼ $\delta$ およびDNAポリメラーゼ $\epsilon$ 変異株では出現したが、野生型では現れなかった。

#### 【0405】

(実施例3: 動物としてマウスなどを用いた、変異生物の作製)

本実施例では、真核生物の代表例として、動物であるマウスを用いて不均衡変異生物の作製を行った。

#### 【0406】

ジーンターゲッティングの技術を用いて、DNA複製校正能が不均衡な複製複合体を持つマウスを作製した。

#### 【0407】

複製校正の機能調節は、DNAポリメラーゼ $\delta$  (配列番号55 (核酸配列) および56 (アミノ酸配列)) および/またはDNAポリメラーゼ $\epsilon$  (配列番号57 (核酸配列) および58 (アミノ酸配列)) の校正機能を調節することによって行った。変異は、pol $\delta$ では、315 (D)  $\rightarrow$  (A), 317 (E)  $\rightarrow$  (A)、pol $\epsilon$ では、275 (D)  $\rightarrow$  (A), 277 (E)  $\rightarrow$  (A) とすることによって行った。

#### 【0408】

(ジーンターゲッティング技術)

ジーンターゲッティング技術は、本質的には、Yagi, T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87 : 9918-9922, 1990、ジーンターゲッティングの最新技術 八木健編集 別冊実験医学 2000, 4に従った。変異polを持つターゲッティングベクターを用いマウスES細胞の相同組み換えを行った。

#### 【0409】

組換えES細胞をマウス初期胚へ導入し胚盤胞を形成させた。この胚盤胞を偽

妊娠マウスへ移植しキメラマウスを作製した。

#### 【0410】

キメラマウスの交配を行い生殖細胞へ変異が導入されたマウスを選択し、交配をすすめ変異がホモとなる変異マウスを作製した。

#### 【0411】

本実施例では、目的の形質として、発癌を指標に選択を行った。

(手順)

##### (1. ES細胞の調製)

胚の内部細胞塊より調製されたマウスES細胞(熊本大学動物資源開発研究センター、熊本、日本より入手可能)を、フィーダー細胞(マウス胎仔線維芽細胞;大阪大学八木教授より入手)を用いて、培地としてDMEM(ダルベッコ改変イーグル培地)へウシ胎仔血清を20~30%加えたものを用いて、5%CO<sub>2</sub>中で37℃下にて行った。

#### 【0412】

フィーダー細胞の調製は、ジーンターゲットの最新技術 八木健編集 別冊実験医学 2000, 4に従って、マウス胎仔繊維芽細胞から初代培養することによって得た。

#### 【0413】

##### (2. ターゲッティングベクターによるp o l 遺伝子の相同組換え)

ターゲッティングベクターは、相同組換えをおこしたES細胞を効率よく得るため、ポジティブ・ネガティブ法(Evans, MJ, Kaufman, MH, Nature, 292, 154-156 (1981))に基づいたベクターを作製した(Capocchi, MR, Science 244:1288-1292 (1989))。

#### 【0414】

ターゲッティングベクターの作製: ターゲッティングベクターの作製は, Molecular Cloning, 2nd edition, Sambrook, J. et al、前出、およびAusubel, F. M. Current Protocols in Molecular Biology, Green P

ublishing Associates and Wiley-Inter  
science, NY, 1987 前出に記載される技術に基づいた。

**【0415】**

ターゲッティングベクターは、変異  $pol\delta$  および/または  $pol\epsilon$  遺伝子をポジティブ遺伝子とネガティブ遺伝子との間に挟んだ。ポジティブ遺伝子としては薬剤耐性遺伝子ネオマイシンを用い、ネガティブ遺伝子としてはジフテリアトキシンを用いた。

**【0416】**

$Pol$  変異としては、 $pol\delta$  および  $pol\epsilon$  の双方ともに校正活性部位（配列番号 55 および 56 ( $\delta$ )、配列番号 57 および 58 ( $\epsilon$ )； $pol\delta$  では、315 (D)  $\rightarrow$  (A)、317 (E)  $\rightarrow$  (A)、 $pol\epsilon$  では、275 (D)  $\rightarrow$  (A)、277 (E)  $\rightarrow$  (A)) へ 1 塩基変異を導入し活性を欠失しておいた (Morrison, A, and Sugino. A J Gen Genet 242 : 289-296, 1994; Goldsby R. E. et al . Pro. Natl. Acad. Sci. USA, 99 : 15560-15565, 2002)。

**【0417】**

(3. ES 細胞へのベクターの導入)

エレクトロポレーション法を用いてベクターを ES 細胞へ導入した。培養は G418 (Sigma, St Louis, MO, USA) を含む培地 (DMEM (Flow Laboratory) にて行った。

**【0418】**

(4. 組換え ES 細胞の回収)

G418 存在下での培養の後、出現したコロニーをプレート (DMEM 培地, Flow Laboratory) へ移した。

**【0419】**

(5. 相同組換え体の確認)

ES 細胞より、ゲノム DNA を抽出して、変異  $pol$  が目的のとおり導入されているか、サザンブロット法および/または PCR 法により確認した。

## 【0420】

(6. キメラマウスの作製—組換えES細胞の胚への導入)

マイクロインジェクション法を用いて上述のように調製された組み換え細胞を胚盤胞へ導入した。ジーンターゲットイングの最新技術 八木健編集 別冊実験医学 2000, 4に記載の常法に従って、胚盤胞としてはES細胞とは毛色の違うホストマウス胚を選択した。

## 【0421】

(7. キメラマウスの作製—偽妊娠マウスへの胚移植)

ES細胞が129系マウス由来 の場合はC57BL/6マウスの胚盤胞内に注入し、ES細胞がTT-2細胞の場合はICRマウスの 8細胞期胚に注入し偽妊娠マウスを作製した。ES細胞を注入したマウス胚は仮親の子宮内または卵管内へそれぞれ移植を行ってキメラマウスを誕生させた。

## 【0422】

(8. キメラマウスの作製—マウス掛け合わせ)

キメラマウスの掛け合わせを行い、変異polが目的どおり生殖細胞へ導入されたことをPCR法および／またはDNA配列決定等にて確認した。さらに掛け合わせを進めホモ変異polを持つマウスを作製した。

## 【0423】

(結果)

本実施例で作製されたマウスについて、発癌しているマウスを選択したところ、所望のとおり、従来技術に比べて比較にならない程度の速度で癌を自然に発生したモデルを提供した。

## 【0424】

(別の形質)

同様の実験を行い、糖尿病、高血圧、動脈硬化、肥満、痴呆、神経障害等についての選択を行ったところ、同様に発症速度が極度に高まっているが、それぞれの症状を自然に発生したモデルを提供することができる。従って、本発明の方法は、動物においても適用可能であることが判明した。

## 【0425】

(別の動物)

次に、同様の実験をラットをモデルとして行った。ラットについても同様に p o l δ (配列番号 60 のアミノ酸配列において 315 位および 317 位の D および E をアラニンにする) に変異を入れることによって、発癌モデルを迅速に作製することができる。

#### 【0426】

(実施例 4: 植物としてイネを用いた、変異生物の作製)

次に、本実施例では、真核生物の代表例として、植物であるイネを用いて不均衡変異生物の作製を行った。

#### 【0427】

ジーンターゲッティングの技術は、本質的に、Yagi, T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:9918-9922, 1990、ジーンターゲッティングの最新技術 八木健編集 別冊実験医学 2000, 4、および (3) Terada R. et al.: Nature Biotech., 20:1030-1034, 2002 に基づいた。本実施例では、DNA複製校正能が不均衡な複製複合体 (Morrison, A et al. Mol. Gen. Genet., 242:289-296, 1994) を持つ植物を作製した。

#### 【0428】

改変する目的となる遺伝形質として、耐病性 (いもち病) および耐寒性を選択した。

#### 【0429】

(ジーンターゲッティング技術)

変異 DNA ポリメラーゼ (p o l) (Morrison, A et al. Mol. Gen. Genet., 242:289-296, 1994) を持つターゲッティングベクターを作成しカルス細胞等の植物細胞の p o l 遺伝子と相同組み換えを行った。その後、細胞の分化を進め植物体を形成させた。

#### 【0430】

(手順)

## (1. カルス細胞の調製)

カルス細胞の調製は、本質的に、Plant Tissue Culture : Theory and Practice. Bhojwani, S. S. and Razdan, . N. K. Elsevier, Amsterdam. 1983 に記載される周知技術に基づいて行った。具体的には、植物体よりカルス細胞を作製した (Davies, R. 1981. Nature. , 291:531-532 および Luo, Z. et al. Plant Mol. Bio. Rep. , 7:69-77, 1989)。

## 【0431】

## (2. pol 遺伝子の相同組み換え)

相同組み換えをおこした細胞を効率よく得るため、マウスのジーンターゲットイング法にて用いられているポジティブ・ネガティブ法 (Yagi, T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:9918-9922, 1990、Capecchi M. R. Science, 244 (16) , 1288-1292, 1989) に準じて相同組み換えを行った。

## 【0432】

ターゲティングベクターの作製：ターゲティングベクターの作製は、Molecular Cloning, 2nd edition, Sambrook, J. et al、前出、および Ausubel, F. M. Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, NY, 1987 前出に記載される技術に基づいた。

## 【0433】

ターゲティングベクターは、変異 pol  $\delta$  および/または pol  $\epsilon$  遺伝子をポジティブ遺伝子とネガティブ遺伝子との間に挟んだ。ポジティブ遺伝子としてはハイグロマイシン耐性遺伝子を用い、ネガティブ遺伝子としてはジフテリアトキシンを用いた (Terada R. et al. : Nature Biotech. , 20:1030-1034, 2002)。

## 【0434】



P o l 変異としては、p o l  $\delta$  に校正活性部位（配列番号 48 の 320 位（D）および 322 位（E）をそれぞれアラニン（A）に変更）へ塩基変異を導入し活性を欠失しておいた（M o r r i s o n . A , a n d S u g i n o . A l G e n G e n e t 242 : 289-296, 1994; G o l d s b y R . E . e t a l . P r o . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 99 : 15560-15565, 2002）。

#### 【0435】

##### （3. カルス細胞へのベクターの導入）

カルス細胞へのベクターの導入は、本質的に、植物バイオテクノロジー I I . 山田康之・大山莞爾編。東京化学同人 1991 に記載の技術に基づいた。本実施例では、エレクトロポレーション法またはアグロバクテリウム法等を用いてベクターをカルス細胞へ導入した。培養はハイグロマイシン（100  $\mu$ g/ml、インビトロゲン社）を含む培地（DMEM （F l o w L a b o r a t o r y ））にて行った。

##### （4. 組み換え細胞の回収）

ハイグロマイシン存在下での培養の後、組換え細胞を回収した（T e r a d a R . e t a l . : N a t u r e B i o t e c h . , 20 : 1030-1034, 2002）。

#### 【0436】

##### （5. 相同組み換え体の確認）

組み換え体からゲノム DNA を抽出して、変異 p o l が目的どおり導入されているか、サザンブロット法・PCR 法により確認した（ジーンターゲティングの最新技術 八木健編集 別冊実験医学 2000, 4）。

#### 【0437】

##### （6. 植物体の作出）

植物体の作出は、本質的に、植物バイオテクノロジー I I . 山田康之・大山莞爾編。東京化学同人 1991、植物組織培養の技術。竹内正幸・中島哲夫・古谷力編 朝倉書店 1988 に基づいて行った。本実施例では、カルスより分化を行い植物体を形成させた。その後、蒴・種子などに由来する 1 倍体細胞、および／

または植物体の掛け合わせ等の後作製されるホモ型の 2 倍体細胞等を用いて pol 変異に由来するミューテーター変異としての性質を当該分野において周知の技法に従って確認した (Maki, H et al. J. Bacteriology, 153 (3), 1361-1367, 1983; Miller, J. H. 1992 A Short course in bacterial genetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y)。

(結果)

本実施例で得られた変異が導入された植物は、所望のとおり耐寒性および耐病 (いもち病) 性を得た植物が従来技術に比較して迅速に得られたことが観察される。

#### 【0438】

(実施例 5 : 遺伝子の取り出し)

本実施例では、遺伝形質の変化を担う遺伝子を単離した。ここでは、実施例 1 において薬剤耐性を獲得した生物を単離し、その後、改変前のオリジナルの生物および改変後の生物において、薬剤耐性を担うと考えられる遺伝子の配列を決定した。その結果、ジャイレース A およびトポイソメラーゼ I V 遺伝子が改変されていることがわかった。この配列を適切なプライマーを用いて PCR 増幅し、全長遺伝子を単離した。その遺伝子を改変前のものおよび改変後のものをポリペプチド合成し、活性を測定すると、確かに活性が変化していることがわかった。このように、本発明の方法は、実際に、遺伝子レベルで迅速に変異を導入することができることが明らかになった。

#### 【0439】

(実施例 6 : 新規生産物質の取り出し)

本実施例では、改変の結果得られた新規生産物質を単離した。ここでは、実施例 1 において薬剤耐性を獲得した生物を単離し、その後、HPLC などのクロマトグラフィー分析によって、改変前のオリジナルの生物には存在せず、改変後の生物において存在する物質を同定し、これを新規生産物質として単離した。その結果、ジャイレース A およびトポイソメラーゼ I V 遺伝子産物が新規生産物質で

あることがわかった。このように、本発明の方法は、実際に、新規生産物質を生産するにおいても有用であることが明らかになった。

#### 【0440】

(実施例 7: 他のエラープロン頻度改変方法)

上記変異に変えて、ポリメラーゼ $\delta$ および $\epsilon$ のポリメラーゼ部分の活性を障害する変異を導入し、DNA複製の精度を下げることも可能である。

#### 【0441】

(実施例 8: エラープロン頻度と進化速度の関係)

上記実施例 1 で得られた酵母の薬剤耐性獲得、アルコール耐性獲得、および高温耐性獲得実験において、対照として従来の変異の入れ方(放射線、化学薬品修理)を用いたものと比較する。これらの従来の変異の入れ方における上述の耐性獲得スピードは、本発明において顕著に上昇した。これは、同時期に実験を開始して、本実施例では耐性獲得株が得られたのに対して、従来技術では得られていないことに如実に反映されている。

#### 【0442】

また、本実施例において変異率が段階的に違ったものを使用し、耐性獲得のタイムコースを比較することによって、進化速度を算出することができる。

#### 【0443】

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。当業者は、本発明の具体的な好ましい実施形態の記載から、本発明の記載および技術常識に基づいて等価な範囲を実施することができることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

#### 【0444】

#### 【発明の効果】

本発明によって、従来の方法に比べて、所望の形質を生物に迅速にかつ生物に対して有害な影響をほとんど与えずに、付与することが達成された。また、本発

明によれば、簡便な操作により、生物の遺伝形質を改変することができる。これにより、従来の方法では得ることができなかったような、有用な生物、遺伝子、遺伝子産物、代謝物などを効率よく得ることができる。

### 【0445】

(配列の説明)

- 配列番号1: 酵母DNAポリメラーゼ $\delta$  核酸配列  
配列番号2: 酵母DNAポリメラーゼ $\delta$  アミノ酸配列  
配列番号3: 酵母DNAポリメラーゼ $\epsilon$  核酸配列  
配列番号4: 酵母DNAポリメラーゼ $\epsilon$  アミノ酸配列  
配列番号5: Dna Q部分配列 (*Escherichia coli*) ;  
配列番号6: Dna Q部分配列 (*Haemophilus influenzae*) ;  
配列番号7: Dna Q部分配列 (*Salmonella typhimurium*)  
配列番号8: Dna Q部分配列 (*Vibrio cholerae*)  
配列番号9: Dna Q部分配列 (*Pseudomonas aeruginosa*)  
配列番号10: Dna Q部分配列 (*Neisseria meningitidis*)  
配列番号11: Dna Q部分配列 (*Chlamydia trachomatis*)  
配列番号12: Dna Q部分配列 (*Streptomyces coelicolor*)  
配列番号13: Dna Q部分配列 (*Shigella flexneri* 2a str. 301)  
配列番号14: Pol C部分配列 (*Staphylococcus aureus*)  
配列番号15: Pol C部分配列 (*Bacillus subtilis*)  
配列番号16: Pol C部分配列 (*Mycoplasma pulmonis*)

配列番号17: Pol C部分配列 (*Mycoplasma genitalium*)

配列番号18: Pol C部分配列 (*Mycoplasma pneumoniae*)

配列番号19: Pol III部分配列 (*Saccharomyces cerevisiae*)

配列番号20: Pol II部分配列 (*Saccharomyces cerevisiae*)

配列番号21: Pol delta部分配列 (マウス)

配列番号22: Pol epsilon部分配列 (マウス)

配列番号23: Pol delta部分配列 (ヒト)

配列番号24: Pol epsilon部分配列 (ヒト)

配列番号25: Pol delta部分配列 (イネ)

配列番号26: Pol delta部分配列 (シロイヌナズナ)

配列番号27: Pol epsilon部分配列 (シロイヌナズナ)

配列番号28: Pol delta部分配列 (ラット)

配列番号29: Pol delta部分配列 (ウシ)

配列番号30: Pol delta部分配列 (ダイズ)

配列番号31: Pol delta部分配列 (ショウジョウバエ)

配列番号32: Pol epsilon部分配列 (ショウジョウバエ)

配列番号33: Pol  $\delta$  酵母改変核酸配列

配列番号34: Pol  $\delta$  酵母改変アミノ配列

配列番号35: Pol  $\epsilon$  酵母改変核酸配列

配列番号36: Pol  $\epsilon$  酵母改変アミノ配列

配列番号37: Pol  $\delta$  正方向プライマー

配列番号38: Pol  $\delta$  逆正方向プライマー

配列番号39: Pol  $\epsilon$  正方向プライマー

配列番号40: Pol  $\epsilon$  逆方向プライマー

配列番号41: *Escherichia coli* DnaQ 核酸配列

配列番号 42: *Escherichia coli* DnaQ アミノ配列  
配列番号 43: *Bacillus subtilis* PolC 核酸配列  
配列番号 44: *Bacillus subtilis* PolC アミノ配列  
配列番号 45: シロイヌナズナ Pol delta アミノ配列  
配列番号 46: シロイヌナズナ Pol epsilon アミノ配列  
配列番号 47: イネ Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 48: イネ Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 49: ダイズ Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 50: ダイズ Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 51: ヒト Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 52: ヒト Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 53: ヒト Pol  $\epsilon$  核酸配列  
配列番号 54: ヒト Pol  $\epsilon$  アミノ配列  
配列番号 55: マウス Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 56: マウス Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 57: マウス Pol  $\epsilon$  核酸配列  
配列番号 58: マウス Pol  $\epsilon$  アミノ配列  
配列番号 59: ラット Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 60: ラット Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 61: ウシ Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 62: ウシ Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 63: ショウジョウバエ Pol  $\delta$  核酸配列  
配列番号 64: ショウジョウバエ Pol  $\delta$  アミノ配列  
配列番号 65: ショウジョウバエ Pol  $\epsilon$  核酸配列  
配列番号 66: ショウジョウバエ Pol  $\epsilon$  アミノ配列

【0446】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Neo-Morgan Laboratories Inc.

<120> Method and system for quickly rendering an organism one or more desired properties

<130> J102519311

<160> 66

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 3551

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 1

acgcgtaact ttttattcta taaaatgttc aatgaggaca tctgctattc gcttatgaag 60  
aacaaacact cagtactact gatctaaggc aattttcaag gataaaggaa aatagatatt 120  
gagcacttgc tattaagcat taatctttat acatatacgc acagcaatga gtgaaaaaag 180  
atcccttccc atggttgatg tgaagatcga tgacgaggat actccccagt tggaaaagaa 240  
aatcaaacgg caatcaatag atcatggtgt tggaagtga cctgtttcaa caatagagat 300  
tattccgagt gattcttttc gaaaatataa tagtcaaggc ttcaaagcaa aggatacaga 360  
tttaatgggt acgcaattag agtctacttt tgaacaagag ctatcgcaaa tggaacatga 420  
tatggccgac caagaagagc atgacctgtc atcattcgag cgtaagaaac ttccaaccga 480  
ttttgacca agtttgtatg atatttcttt ccaacaaatt gatgcggaac agagcgtagt 540  
gaatggtatc aaagatgaaa atacatctac cgtggtaagg ttttttggtg tcactagtga 600  
aggacactct gtactttgta atgttacagg gttcaagaac tatcttttacg tcccagcgcc 660

caattcttcc gacgctaacg atcaggagca aatcaacaag tttgtgcact atttaaacga 720  
aacatttgac cacgctattg attcgattga agttgtatct aaacagtcta tctggggtta 780  
ttccggagat accaaattac cattctggaa aatatacgtc acctatccgc atatggtcaa 840  
caaactgcgt actgcgtttg aaagagggtca tctttcattc aactcgtggt tttctaacgg 900  
cacgactact tatgataaca ttgcctacac ttttaagggtta atggttagatt gtggaattgt 960  
cggtatgtcc tggataacat taccaaaagg aaagtattcg atgattgagc ctaataacag 1020  
agtttctct tgtcagttgg aagtttcaat taattatcgt aacctaatac cacatcctgc 1080  
tgagggtgat tgggtctata cagctccatt gcgtatcatg tcctttgata tcgagtgtgc 1140  
tggtaggatt ggcgtctttc cggaacctga atacgatccc gtcattccaa ttgccaacgt 1200  
tgtgagtatt gctggcgcta agaaaccatt cattcgtaat gtgtttactc tgaatacatg 1260  
ctcaccata acaggttcaa tgattttttc ccacgccact gaagaggaaa tgttgagcaa 1320  
ttggcgtaac tttatcatca aagttgatcc tgatgttattc attggttata atactacaaa 1380  
ttttgatata ccttatcttt taaaccgtgc aaaggcgcta aaggtgaatg atttccata 1440  
ttttggaagg ttaaaaaccg ttaagcaaga aattaaagag tctgtgttct cttcgaaggc 1500  
ttatggtaca agagaaacca aaaatgtcaa tattgacggc cgattacagt tggatctttt 1560  
gcaatttatt cagcgtgagt ataaactaag atcctacacg ttgaatgcag tctctgcgca 1620  
ctttttaggt gaacagaagg aggatgtaca ttatagcatc atttctgatc tacaaaatgg 1680  
cgatagtga acaagaagaa ggttggccgt ttactgtttg aaagacgcct acctgccttt 1740  
aaggcttatg gaaaaactaa tggcgttagt taactataca gaaatggctc gtgttacagg 1800  
tgtgccattt tcatatttac tagctcgtgg tcaacaaatt aaagttgttt ctcaactatt 1860  
tcgaaagtgc ctggagattg atactgtgat acctaacatg caatctcagg cctctgatga 1920  
ccaatatgag ggtgccactg ttattgagcc tattcgtggt tattacgatg taccgattgc 1980  
aactttggat ttcaattctt tatatccaag tattatgatg gcgcacaacc tatgttatac 2040  
aacactttgt acaaagcta ctgtagagag atigaatctt aaaattgacg aagactacgt 2100  
cataacacct aatggagatt attttggtac cacaaaaaga aggcgtggta tattaccaat 2160  
tattctggat gaattaataa gtgctagaaa acgcgctaaa aaagatctga gagatgagaa 2220  
ggatccattc aaaagagatg ttttaaatgg tagacaattg gctttgaaga tttcagctaa 2280  
ctctgtctat ggttttacag gagcgacggt gggttaaattg ccatgtttag ccatttcttc 2340  
atctgttact gcttatggtc gtacatgat tttaaaaact aaaaccgcag tccaagaaaa 2400



atattgtata aagaatggtt ataagcacga tgccgttgtg gtttacggtg acactgattc 2460  
cgttatggta aagtttggtg caacagattt aaaggaagct atggatcttg gtaccgaagc 2520  
tgccaaatat gtctccactc tattcaaaca tccgattaac ttagaatttg aaaaagcata 2580  
cttcccttac cttttgataa ataaaaagcg ttatgcaggt ttattctgga ctaatcctga 2640  
caagtttgac aagttggacc aaaaaggcct tgcttctgtc cgtcgtgatt cctgttcctt 2700  
ggtttctatt gttatgaata aagtttttaa gaaaatttta attgaaagaa atgtagatgg 2760  
tgctttagct tttgtcagag aaactatcaa tgatattctg cataatagag tagatatctc 2820  
aaagttgatt atatcaaaga cgtagcccc aaattacaca aatccacagc cgcacgccgt 2880  
tttggtgaa cgtatgaaga ggagagaggg cgttggtcca aatgttggtg atcgtgtgga 2940  
ctatgtcatt atcgggtggtg atgataaact ttacaataga gcagaagatc cattatttgt 3000  
actagaaaac aatattcaag tggattcgcg ctattattta actaatcaat taaaaatcc 3060  
aatcattagt attgttgac ctattattgg cgacaaacag gcgaacggta tgttcgttgt 3120  
gaaatccatt aaaattaaca caggctctca aaaaggaggc ttgatgagct ttattaaaaa 3180  
agttgaggct tgtaaaagtt gtaaagggtcc gttgaggaaa ggtgaaggcc ctctttgttc 3240  
aaactgtcta gcaagggtctg gagaattata cataaaggca ttatacgatg tcagagattt 3300  
agaggaaaaa tactcaagat tatggacaca atgccaaagg tgcgctggta acttacatag 3360  
tgaagttttg tgttcaaata agaactgtga cttttttat atgcgggtta aggttaaaaa 3420  
agagctgcag gagaaagtag aacaattaag caaatggtaa aaaacgatag ggtggcacat 3480  
catattagga ttaagaaagg ctaacaactt tttgcatgtt ggtggatata tatgtatata 3540  
taaatagata c 3551

<210> 2

<211> 1097

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 2

Met Ser Glu Lys Arg Ser Leu Pro Met Val Asp Val Lys Ile Asp Asp

出証特2004-3037187

Tyr Val Pro Ala Pro Asn Ser Ser Asp Ala Asn Asp Gln Glu Gln Ile  
165 170 175

Asn Lys Phe Val His Tyr Leu Asn Glu Thr Phe Asp His Ala Ile Asp  
180 185 190

Ser Ile Glu Val Val Ser Lys Gln Ser Ile Trp Gly Tyr Ser Gly Asp  
195 200 205

Thr Lys Leu Pro Phe Trp Lys Ile Tyr Val Thr Tyr Pro His Met Val  
210 215 220

Asn Lys Leu Arg Thr Ala Phe Glu Arg Gly His Leu Ser Phe Asn Ser  
225 230 235 240

Trp Phe Ser Asn Gly Thr Thr Thr Tyr Asp Asn Ile Ala Tyr Thr Leu  
245 250 255

Arg Leu Met Val Asp Cys Gly Ile Val Gly Met Ser Trp Ile Thr Leu  
260 265 270

Pro Lys Gly Lys Tyr Ser Met Ile Glu Pro Asn Asn Arg Val Ser Ser  
275 280 285

Cys Gln Leu Glu Val Ser Ile Asn Tyr Arg Asn Leu Ile Ala His Pro  
290 295 300

Ala Glu Gly Asp Trp Ser His Thr Ala Pro Leu Arg Ile Met Ser Phe  
305 310 315 320

Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Ile Gly Val Phe Pro Glu Pro Glu Tyr  
325 330 335

Asp Pro Val Ile Gln Ile Ala Asn Val Val Ser Ile Ala Gly Ala Lys  
340 345 350

Lys Pro Phe Ile Arg Asn Val Phe Thr Leu Asn Thr Cys Ser Pro Ile  
355 360 365

Thr Gly Ser Met Ile Phe Ser His Ala Thr Glu Glu Glu Met Leu Ser  
370 375 380

Asn Trp Arg Asn Phe Ile Ile Lys Val Asp Pro Asp Val Ile Ile Gly  
385 390 395 400

Tyr Asn Thr Thr Asn Phe Asp Ile Pro Tyr Leu Leu Asn Arg Ala Lys  
405 410 415

Ala Leu Lys Val Asn Asp Phe Pro Tyr Phe Gly Arg Leu Lys Thr Val  
420 425 430

Lys Gln Glu Ile Lys Glu Ser Val Phe Ser Ser Lys Ala Tyr Gly Thr  
435 440 445

Arg Glu Thr Lys Asn Val Asn Ile Asp Gly Arg Leu Gln Leu Asp Leu  
450 455 460

Leu Gln Phe Ile Gln Arg Glu Tyr Lys Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn

465                      470                      475                      480

Ala Val Ser Ala His Phe Leu Gly Glu Gln Lys Glu Asp Val His Tyr  
                         485                      490                      495

Ser Ile Ile Ser Asp Leu Gln Asn Gly Asp Ser Glu Thr Arg Arg Arg  
                         500                      505                      510

Leu Ala Val Tyr Cys Leu Lys Asp Ala Tyr Leu Pro Leu Arg Leu Met  
                         515                      520                      525

Glu Lys Leu Met Ala Leu Val Asn Tyr Thr Glu Met Ala Arg Val Thr  
                         530                      535                      540

Gly Val Pro Phe Ser Tyr Leu Leu Ala Arg Gly Gln Gln Ile Lys Val  
545                      550                      555                      560

Val Ser Gln Leu Phe Arg Lys Cys Leu Glu Ile Asp Thr Val Ile Pro  
                         565                      570                      575

Asn Met Gln Ser Gln Ala Ser Asp Asp Gln Tyr Glu Gly Ala Thr Val  
                         580                      585                      590

Ile Glu Pro Ile Arg Gly Tyr Tyr Asp Val Pro Ile Ala Thr Leu Asp  
                         595                      600                      605

Phe Asn Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Met Met Ala His Asn Leu Cys Tyr  
610                      615                      620

Thr Thr Leu Cys Asn Lys Ala Thr Val Glu Arg Leu Asn Leu Lys Ile  
625 630 635 640

Asp Glu Asp Tyr Val Ile Thr Pro Asn Gly Asp Tyr Phe Val Thr Thr  
645 650 655

Lys Arg Arg Arg Gly Ile Leu Pro Ile Ile Leu Asp Glu Leu Ile Ser  
660 665 670

Ala Arg Lys Arg Ala Lys Lys Asp Leu Arg Asp Glu Lys Asp Pro Phe  
675 680 685

Lys Arg Asp Val Leu Asn Gly Arg Gln Leu Ala Leu Lys Ile Ser Ala  
690 695 700

Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Thr Val Gly Lys Leu Pro Cys  
705 710 715 720

Leu Ala Ile Ser Ser Ser Val Thr Ala Tyr Gly Arg Thr Met Ile Leu  
725 730 735

Lys Thr Lys Thr Ala Val Gln Glu Lys Tyr Cys Ile Lys Asn Gly Tyr  
740 745 750

Lys His Asp Ala Val Val Val Tyr Gly Asp Thr Asp Ser Val Met Val  
755 760 765

Lys Phe Gly Thr Thr Asp Leu Lys Glu Ala Met Asp Leu Gly Thr Glu  
770 775 780

Ala Ala Lys Tyr Val Ser Thr Leu Phe Lys His Pro Ile Asn Leu Glu  
785 790 795 800

Phe Glu Lys Ala Tyr Phe Pro Tyr Leu Leu Ile Asn Lys Lys Arg Tyr  
805 810 815

Ala Gly Leu Phe Trp Thr Asn Pro Asp Lys Phe Asp Lys Leu Asp Gln  
820 825 830

Lys Gly Leu Ala Ser Val Arg Arg Asp Ser Cys Ser Leu Val Ser Ile  
835 840 845

Val Met Asn Lys Val Leu Lys Lys Ile Leu Ile Glu Arg Asn Val Asp  
850 855 860

Gly Ala Leu Ala Phe Val Arg Glu Thr Ile Asn Asp Ile Leu His Asn  
865 870 875 880

Arg Val Asp Ile Ser Lys Leu Ile Ile Ser Lys Thr Leu Ala Pro Asn  
885 890 895

Tyr Thr Asn Pro Gln Pro His Ala Val Leu Ala Glu Arg Met Lys Arg  
900 905 910

Arg Glu Gly Val Gly Pro Asn Val Gly Asp Arg Val Asp Tyr Val Ile  
915 920 925

Ile Gly Gly Asn Asp Lys Leu Tyr Asn Arg Ala Glu Asp Pro Leu Phe

930

935

940

Val Leu Glu Asn Asn Ile Gln Val Asp Ser Arg Tyr Tyr Leu Thr Asn

945

950

955

960

Gln Leu Gln Asn Pro Ile Ile Ser Ile Val Ala Pro Ile Ile Gly Asp

965

970

975

Lys Gln Ala Asn Gly Met Phe Val Val Lys Ser Ile Lys Ile Asn Thr

980

985

990

Gly Ser Gln Lys Gly Gly Leu Met Ser Phe Ile Lys Lys Val Glu Ala

995

1000

1005

Cys Lys Ser Cys Lys Gly Pro Leu Arg Lys Gly Glu Gly Pro Leu Cys

1010

1015

1020

Ser Asn Cys Leu Ala Arg Ser Gly Glu Leu Tyr Ile Lys Ala Leu Tyr

1025

1030

1035

1040

Asp Val Arg Asp Leu Glu Glu Lys Tyr Ser Arg Leu Trp Thr Gln Cys

1045

1050

1055

Gln Arg Cys Ala Gly Asn Leu His Ser Glu Val Leu Cys Ser Asn Lys

1060

1065

1070

Asn Cys Asp Ile Phe Tyr Met Arg Val Lys Val Lys Lys Glu Leu Gln

1075

1080

1085



Glu Lys Val Glu Gln Leu Ser Lys Trp

1090

1095

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 7505

&lt;212&gt; DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

&lt;400&gt; 3

cgctctgccc tagttggaat gccatcgaac cacgaggatc ttggaatgga aaaccaccgc 60  
cactgccatt tacgtttgca ttcataattcg cattaccttg gccattcacg ggcggtgttcc 120  
tcggaatttg cattggctcgt tgctgtttgtg gagtgtggga aaagcgatcg ttaacgccat 180  
tctgctcact tgttgcatat gcgtacggat tataagacat cttggtatgg gccttttggtt 240  
ttcgttttct gctattgata ctcahtagcg aggtcttaca atcgaaaagt caaaaagatg 300  
agttgtagta taaaacaaca gctctggtgt gcaatatgga tcttgataca gagtctcgga 360  
tatgctgttt tagcactgag aaaaagtaat agtaacactg tcagtgttcg tcaaaggccc 420  
aagttttattg tcatttgaat tgtcagaatg gtttattttc aggtagggtg accagaacgc 480  
gtaagtttct tgcattttt accattttta ctggaagagg acctatcaa aagagcatat 540  
gatgatgaaa gagcacattc tatcaagata acactctcag gggacaagta tatgatgttt 600  
ggcaagaaaa aaaacaacgg aggatcttcc actgcaagat attcagctgg caacaagtac 660  
aacacactct caaataatta tgcgcttagc gcgcaacagc tcttaaatgc tagtaagatc 720  
gatgacatcg attcgatgat gggatttgaa agatacgtac cgccgcaata caatggcagg 780  
tttgatgcga aggatataga tcagattcca ggccgcgtag ggtggctgac gaacatgcac 840  
gcaacgctgg tctctcagga aaccttatcc agtggtagta atggcggcgg caattcgaat 900  
gacggagaac gtgtaacgac caaccaaggt atttccggag ttgacttcta ctttttagat 960  
gaagagggtg ggagcttcaa gtcgacagtt gtctatgacc catacttctt tattgcgtgt 1020  
aacgatgaat caagagtaaa tgatgtggag gaactagtga aaaaatatct ggaatcttgt 1080  
ctcaaaagct tacaatcat tagaaaggaa gatcttacca tggacaatca ctttttaggg 1140

ctgcagaaga cacttattaa gttatcattt gtaaattcca atcagttatt cgaggccagg 1200  
aaactcctga ggccaatctt gcaggataat gccataata atgtgcaaag aaatatatat 1260  
aacgttgctg caaatggctc ggaaaaagtt gacgccaaac atctgatcga agatatcagg 1320  
gaatatgatg tgccgtatca tgtccgagta tctatagaca aggacattag agtcggtaaa 1380  
tggtataagg taactcaaca gggattcatt gaagatacta ggaaaattgc atttgccgac 1440  
cctgtggtaa tggcatttga tatagaaacc acgaagccgc ctttaaaatt cccggattcc 1500  
gccgtagatc aaataatgat gatttcgtat atgatcgatg gggaaggttt ttgataaca 1560  
aatagggaga taatctctga ggatattgaa gactttgagt atacaccgaa accggagtat 1620  
cctggttttt tcaccatatt taacgaaaac gatgaagtgg cgcttctaca aaggtttttt 1680  
gaacatataa gagatgtacg acccactgtt atatccacct tcaatgggtga ctttttcgat 1740  
tggcctttta tacataacag aagtaagatt cacggcttgg acatgttcga tgaaattggt 1800  
ttcgctccag atgctgaagg tgagtacaag tcctcact gctctcatat ggattgtttc 1860  
cgttgggtga agcgtgattc ttatttacca caaggttccc agggtttaaa agctgttact 1920  
caatctaagc taggttataa cccaattgaa ctggatcccg aattaatgac gccgtatgca 1980  
tttgaaaagc cacagcacct ttccgaatat tctgtttccg atgcagtcgc tacgtattac 2040  
ctttacatga aatatgttca tccttttatt ttttcccttt gtactattat tcctttgaac 2100  
ccggatgaaa cattgagaaa gggtagcgtt actttgtgtg aaatgttggt gatggttcaa 2160  
gcttatcaac ataataattc tctaccaa atgcatacag atccattga gaggttctat 2220  
gatggacatc ttctagaatc cgagacttac gtgggtggac atgtggagtc attagaagct 2280  
gggtgtttta ggagtgatit gaagaatgaa ttcaagatag atccttctgc cattgatgaa 2340  
ttattacaag aattaccaga agctttgaaa tttagtgtgg aagttgaaaa taagtccagt 2400  
gtagataaag taacgaattt tgaggaaata aaaaaccaga taacgcagaa attattagag 2460  
ttgaaggaaa acaatataag aaacgaacta cctttgatct atcatgtaga tgtcgcctct 2520  
atgtacccaa acatcatgac tacaataga ctacaaccag atagtatcaa agcagagcgc 2580  
gattgtgcta gttgcgattt taatagaccc ggaaaaacct gtgcaagaaa gttaaaatgg 2640  
gcttggagag gagaattctt tcccagtaag atggatgagt ataacatgat caagcgtgca 2700  
ttacaaaatg agacttttcc caacaaaaac aagttttcta aaaagaaagt ttgacattt 2760  
gatgaactaa gttacgcaga ccaagttatc cacataaaaa aacgtttaac tgaatattca 2820  
aggaaagttt atcataggtt taaagtatca gaaattgtcg aacgagaagc cattgtctgc 2880

caaagagaaa atccattcta cgtcgatacc gtgaaatcct ttcgtgatag gcgttacgaa 2940  
ttcaaagggt tagccaagac ttggaaggga aatctgtcca aaattgaccc atctgataag 3000  
catgcgagag acgaggccaa aaagatgatt gtgctttatg actcattaca attagctcac 3060  
aaagttatgt tgaattcgtt ttatgggtat gttatgagga aaggctctcg ttggtattcc 3120  
atggaaatgg cggggattac gtgtttaaca ggtgccacga tcattcaaat ggcgagagct 3180  
ttagtagaaa gggtaggaag accattagaa ttagatactg atggtatttg gtgtatctta 3240  
ccaaaatctt tccctgaaac ttactttttt acattagaaa atggtaaaaa gctttatctc 3300  
tcctacccat gttccatgct gaattacaga gttcaccaaa agtttacgaa tcaccaatac 3360  
caagaattaa aagacccatt gaactatata tatgagacgc acagtgaaaa cacgattttt 3420  
ttcgaagttg acggaccata taaggccatg attttgccta gttccaagga agaaggaaaa 3480  
ggtataaaga aaagatatgc tgtcttcaat gaagacggct cacttgctga actgaaagggt 3540  
tttgaattga agaggcgtgg tgaattacaa ctaataaaaa attttcaaag tgatattttc 3600  
aaggcttttt tggaagggtga tacattagaa ggatgttaca gtgctgtagc aagcgtatgt 3660  
aaccgttgggt tagatgttct tgattcacat ggtcttatgt tagaagatga agacttggtc 3720  
agtttgattt gtgaaaatag aagtatgtca aaaactttta aggaatatga agggcaaaaa 3780  
tctacttcta ttacgacggc aaggagattg ggggattttt tgggtgaaga tatggtaaaa 3840  
gataaagggt tacaatgtaa atatattatt agttcaaac ctttcaatgc acctgttact 3900  
gaacgagcca ttccagtcgc aatattttca gcggacattc ccatcaaaag gtcttttctg 3960  
aggcgatgga cattagatcc atctttggaa gatctggata tcagaacat aatcgattgg 4020  
ggttattata gagaaagact tggatctgct atacaaaaga taattactat tccagcagca 4080  
ttacaagggg ttccaatcc tgttccaagg gttgaacatc cagattggct aaaaagaaaa 4140  
atcgctacaa aggaggataa gttaagcag acttactaa ccaaattttt ttcgaagaca 4200  
aagaatgtac caacaatggg caagataaaa gatatcgagg atttgtttga accaactgta 4260  
gaagaagata acgccaaaat taaaattgca agaactacta aaaagaaagc cgtatccaag 4320  
aggaaaagaa atcagcttac aaatgaagaa gatccactag tattgccctc ggagattcct 4380  
tccatggacg aggactatgt tgggtggcta aattatcaaa aaattaaatg gaaaatccaa 4440  
gcaagagata gaaagcgtcg agaccaatta tttggtaata caaacagctc ccgtgaaaga 4500  
agtgcactag gaagtatgat taggaagcaa gctgaatcat atgcgaactc cacttgggag 4560  
gtcttacaat acaaggattc cggtagacca ggggttttgg aagtatttgt aacaattaat 4620

ggcaaagtcc agaacatcac cttccatata ccaaaaacta tttatatgaa attcaaattct 4680  
caaacaatgc cgctacaaaa gattaagaat tgccttattg aaaaatcttc tgcattcgta 4740  
ccaaataatc ccaaaacgtc taatccagca ggcggtcagc tattcaaaat tactctaccg 4800  
gaatctgtct ttctggaaga aaaggaaaac tgcactagta tcitcaacga tgaaaatgta 4860  
cttgggtgtat ttgagggcac tatcactcct catcaaagag cgatcatgga ttigggagct 4920  
tcggtaacgt tccgctcaaa agcaatgggt gcgttaggca agggaatata gcagggtttt 4980  
gaaatgaagg atctttcaat ggcggaaaat gaaaggtatc tgagtggatt ttcaatggac 5040  
attggctatt tactacattt cccaacatca attgggtatg aatttttttc attattcaag 5100  
tcatggggag atactattac tatattagtt ttgaaacat ccaaccaggc tcaggaaata 5160  
aatgcctcat cattaggaca aatatacaaa caaatgtttg aaaaaaagaa aggtaaaata 5220  
gaaacatatt cttacttgggt tgatattaaa gaagatatca attttgagtt tgtatatttt 5280  
acagatatct caaaattgta cagaagacta tcacaggaaa ctactaaatt aaaagaagaa 5340  
agaggctctgc agtttttact cttgtttaca tctccgttta tctaagct cttaggcaca 5400  
atccggcttc taaaccagat gccattgtt aagctttcct tgaatgaagt tcttctaccc 5460  
caattgaact ggcaaccgac attattgaag aaacttgta accacgtttt atccagtgg 5520  
tcgtggattt ctcacttgat caagttatcc cagtatagta acattccaat ctgtaatttg 5580  
aggctggata gtatggatta tattattgat gttctttatg caagaaaact aaaaaagag 5640  
aacatcgtgc ttiggtggaa tgagaaagct ccacttcag atcatggagg cattcaaat 5700  
gattttgatt taaatacatc atggataatg aatgattcag aatttccaa aattaataac 5760  
tcaggtgtgt atgacaatgt agttctcgat gttgggtgtg ataatttaac agtgaacaca 5820  
attttgacat cagcattaat caatgatgt gaaggcagtg atctagttaa caataatatg 5880  
ggtatagatg acaaagatgc cgttattaac tcgccatctg aattcgtgca cgacgccttt 5940  
tctaatacag ctttgaatgt ttttaagaggt atgttaaagg agtgggtggga tgaggcccta 6000  
aaagaaaatt caaccgcaga ttgtttggta aattccctgg caagttgggt tcaaaacccg 6060  
aatgcgaaac tattcgacgg attactaaga tatcacgtc ataacttaac aaaaaagcc 6120  
ttacttcaat tagtaaatga atttagtgca cttggctcaa ctattgtata tgcagacagg 6180  
aatcaaattc taataaagac aaacaagtac tcacctgaaa actgttacgc ctacagccaa 6240  
tatatgatga aggcagttag aacaaatcca atgtttagtt atctggactt aaatatcaaa 6300  
cgttattggg atctgcta atggatggat aagttaatt ttagtggatt agcatgtatt 6360

gaaatagagg aaaaggaaaa tcaggattat accgctgttt cgcaatggca actaaagaag 6420  
tttctgtcac caatatatca gcccgaattt gaggattgga tgatgatcat attggatagt 6480  
atgctaaaga caaagcagag ctatctaaaa ttgaattcag ggacgcaaag acctacccaa 6540  
atagttaatg taaaaaaca agataaggaa gatagtgttg aaaactcggt gaacggattt 6600  
tctcaccttt tttccaaacc actaatgaaa agagtcaaaa agctttttta aaaccagcaa 6660  
gagttcattt tagatcctca gtatgaggca gactatgtta ttcctgttct tcctggttcc 6720  
catctgaatg tgaaaaatcc ctttctagaa cttgtcaaat cactctgcca tgtcatgtta 6780  
ctttcaaaga gtacaatttt agaaatcagg accctgagaa aagaactgct gaagatattt 6840  
gaattgcgtg agtttgctaa agtagcggaa ttcaaagatc caagtttgag tctcgtgggtg 6900  
ccggattttt tatgtgaata ctgttttttc atttctgata ttgacttttg taaggcagct 6960  
cctgaatcta ttttttcatg cgtcagatgt cacaaagcct ttaatcaagt attgttgcaa 7020  
gaacacctga ttcaaaaact acgttctgat atcgaatcct atttaattca agatttgaga 7080  
tgctccagat gtcataaagt gaaacgtgac tatatgagtg cccactgtcc atgtgccggc 7140  
gcgtgggaag gaactctccc cagagaaagc attgttcaaa agttaaatgt gtttaagcaa 7200  
gtagccaagt attacggttt tgatatatta ttgagttgta ttgctgattt gaccatatga 7260  
gtaagcagta tataacgcga ggttcaatgg cctctttacc atgaaaaaaaa aaaaaaaaaa 7320  
aaaaaaaaagg taaggaaaaa gagtattttc aattcgtttc tgaacatata aatataaata 7380  
accgaaaaat tagcccttga acataattaa cactcttctt tgatattta atcacaagta 7440  
cttttctttt attttcttct taatactttt ggaaataaaa tgaatgtgac cactccggaa 7500  
gttgc 7505

<210> 4

<211> 2222

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 4

Met Met Phe Gly Lys Lys Lys Asn Asn Gly Gly Ser Ser Thr Ala Arg

1	5	10	15
Tyr Ser Ala Gly Asn Lys Tyr Asn Thr Leu Ser Asn Asn Tyr Ala Leu			
20	25	30	
Ser Ala Gln Gln Leu Leu Asn Ala Ser Lys Ile Asp Asp Ile Asp Ser			
35	40	45	
Met Met Gly Phe Glu Arg Tyr Val Pro Pro Gln Tyr Asn Gly Arg Phe			
50	55	60	
Asp Ala Lys Asp Ile Asp Gln Ile Pro Gly Arg Val Gly Trp Leu Thr			
65	70	75	80
Asn Met His Ala Thr Leu Val Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser Gly Ser			
85	90	95	
Asn Gly Gly Gly Asn Ser Asn Asp Gly Glu Arg Val Thr Thr Asn Gln			
100	105	110	
Gly Ile Ser Gly Val Asp Phe Tyr Phe Leu Asp Glu Glu Gly Gly Ser			
115	120	125	
Phe Lys Ser Thr Val Val Tyr Asp Pro Tyr Phe Phe Ile Ala Cys Asn			
130	135	140	
Asp Glu Ser Arg Val Asn Asp Val Glu Glu Leu Val Lys Lys Tyr Leu			
145	150	155	160

Glu Ser Cys Leu Lys Ser Leu Gln Ile Ile Arg Lys Glu Asp Leu Thr  
165 170 175

Met Asp Asn His Leu Leu Gly Leu Gln Lys Thr Leu Ile Lys Leu Ser  
180 185 190

Phe Val Asn Ser Asn Gln Leu Phe Glu Ala Arg Lys Leu Leu Arg Pro  
195 200 205

Ile Leu Gln Asp Asn Ala Asn Asn Asn Val Gln Arg Asn Ile Tyr Asn  
210 215 220

Val Ala Ala Asn Gly Ser Glu Lys Val Asp Ala Lys His Leu Ile Glu  
225 230 235 240

Asp Ile Arg Glu Tyr Asp Val Pro Tyr His Val Arg Val Ser Ile Asp  
245 250 255

Lys Asp Ile Arg Val Gly Lys Trp Tyr Lys Val Thr Gln Gln Gly Phe  
260 265 270

Ile Glu Asp Thr Arg Lys Ile Ala Phe Ala Asp Pro Val Val Met Ala  
275 280 285

Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Pro Pro Leu Lys Phe Pro Asp Ser Ala  
290 295 300

Val Asp Gln Ile Met Met Ile Ser Tyr Met Ile Asp Gly Glu Gly Phe  
305 310 315 320

Leu Ile Thr Asn Arg Glu Ile Ile Ser Glu Asp Ile Glu Asp Phe Glu

325

330

335

Tyr Thr Pro Lys Pro Glu Tyr Pro Gly Phe Phe Thr Ile Phe Asn Glu

340

345

350

Asn Asp Glu Val Ala Leu Leu Gln Arg Phe Phe Glu His Ile Arg Asp

355

360

365

Val Arg Pro Thr Val Ile Ser Thr Phe Asn Gly Asp Phe Phe Asp Trp

370

375

380

Pro Phe Ile His Asn Arg Ser Lys Ile His Gly Leu Asp Met Phe Asp

385

390

395

400

Glu Ile Gly Phe Ala Pro Asp Ala Glu Gly Glu Tyr Lys Ser Ser Tyr

405

410

415

Cys Ser His Met Asp Cys Phe Arg Trp Val Lys Arg Asp Ser Tyr Leu

420

425

430

Pro Gln Gly Ser Gln Gly Leu Lys Ala Val Thr Gln Ser Lys Leu Gly

435

440

445

Tyr Asn Pro Ile Glu Leu Asp Pro Glu Leu Met Thr Pro Tyr Ala Phe

450

455

460



Glu Lys Pro Gln His Leu Ser Glu Tyr Ser Val Ser Asp Ala Val Ala  
465 470 475 480

Thr Tyr Tyr Leu Tyr Met Lys Tyr Val His Pro Phe Ile Phe Ser Leu  
485 490 495

Cys Thr Ile Ile Pro Leu Asn Pro Asp Glu Thr Leu Arg Lys Gly Thr  
500 505 510

Gly Thr Leu Cys Glu Met Leu Leu Met Val Gln Ala Tyr Gln His Asn  
515 520 525

Ile Leu Leu Pro Asn Lys His Thr Asp Pro Ile Glu Arg Phe Tyr Asp  
530 535 540

Gly His Leu Leu Glu Ser Glu Thr Tyr Val Gly Gly His Val Glu Ser  
545 550 555 560

Leu Glu Ala Gly Val Phe Arg Ser Asp Leu Lys Asn Glu Phe Lys Ile  
565 570 575

Asp Pro Ser Ala Ile Asp Glu Leu Leu Gln Glu Leu Pro Glu Ala Leu  
580 585 590

Lys Phe Ser Val Glu Val Glu Asn Lys Ser Ser Val Asp Lys Val Thr  
595 600 605

Asn Phe Glu Glu Ile Lys Asn Gln Ile Thr Gln Lys Leu Leu Glu Leu  
610 615 620

Lys Glu Asn Asn Ile Arg Asn Glu Leu Pro Leu Ile Tyr His Val Asp  
625 630 635 640

Val Ala Ser Met Tyr Pro Asn Ile Met Thr Thr Asn Arg Leu Gln Pro  
645 650 655

Asp Ser Ile Lys Ala Glu Arg Asp Cys Ala Ser Cys Asp Phe Asn Arg  
660 665 670

Pro Gly Lys Thr Cys Ala Arg Lys Leu Lys Trp Ala Trp Arg Gly Glu  
675 680 685

Phe Phe Pro Ser Lys Met Asp Glu Tyr Asn Met Ile Lys Arg Ala Leu  
690 695 700

Gln Asn Glu Thr Phe Pro Asn Lys Asn Lys Phe Ser Lys Lys Lys Val  
705 710 715 720

Leu Thr Phe Asp Glu Leu Ser Tyr Ala Asp Gln Val Ile His Ile Lys  
725 730 735

Lys Arg Leu Thr Glu Tyr Ser Arg Lys Val Tyr His Arg Val Lys Val  
740 745 750

Ser Glu Ile Val Glu Arg Glu Ala Ile Val Cys Gln Arg Glu Asn Pro  
755 760 765

Phe Tyr Val Asp Thr Val Lys Ser Phe Arg Asp Arg Arg Tyr Glu Phe

770

775

780

Lys Gly Leu Ala Lys Thr Trp Lys Gly Asn Leu Ser Lys Ile Asp Pro

785

790

795

800

Ser Asp Lys His Ala Arg Asp Glu Ala Lys Lys Met Ile Val Leu Tyr

805

810

815

Asp Ser Leu Gln Leu Ala His Lys Val Ile Leu Asn Ser Phe Tyr Gly

820

825

830

Tyr Val Met Arg Lys Gly Ser Arg Trp Tyr Ser Met Glu Met Ala Gly

835

840

845

Ile Thr Cys Leu Thr Gly Ala Thr Ile Ile Gln Met Ala Arg Ala Leu

850

855

860

Val Glu Arg Val Gly Arg Pro Leu Glu Leu Asp Thr Asp Gly Ile Trp

865

870

875

880

Cys Ile Leu Pro Lys Ser Phe Pro Glu Thr Tyr Phe Phe Thr Leu Glu

885

890

895

Asn Gly Lys Lys Leu Tyr Leu Ser Tyr Pro Cys Ser Met Leu Asn Tyr

900

905

910

Arg Val His Gln Lys Phe Thr Asn His Gln Tyr Gln Glu Leu Lys Asp

915

920

925

Pro Leu Asn Tyr Ile Tyr Glu Thr His Ser Glu Asn Thr Ile Phe Phe  
930 935 940

Glu Val Asp Gly Pro Tyr Lys Ala Met Ile Leu Pro Ser Ser Lys Glu  
945 950 955 960

Glu Gly Lys Gly Ile Lys Lys Arg Tyr Ala Val Phe Asn Glu Asp Gly  
965 970 975

Ser Leu Ala Glu Leu Lys Gly Phe Glu Leu Lys Arg Arg Gly Glu Leu  
980 985 990

Gln Leu Ile Lys Asn Phe Gln Ser Asp Ile Phe Lys Val Phe Leu Glu  
995 1000 1005

Gly Asp Thr Leu Glu Gly Cys Tyr Ser Ala Val Ala Ser Val Cys Asn  
1010 1015 1020

Arg Trp Leu Asp Val Leu Asp Ser His Gly Leu Met Leu Glu Asp Glu  
1025 1030 1035 1040

Asp Leu Val Ser Leu Ile Cys Glu Asn Arg Ser Met Ser Lys Thr Leu  
1045 1050 1055

Lys Glu Tyr Glu Gly Gln Lys Ser Thr Ser Ile Thr Thr Ala Arg Arg  
1060 1065 1070

Leu Gly Asp Phe Leu Gly Glu Asp Met Val Lys Asp Lys Gly Leu Gln  
1075 1080 1085

Cys Lys Tyr Ile Ile Ser Ser Lys Pro Phe Asn Ala Pro Val Thr Glu  
1090 1095 1100

Arg Ala Ile Pro Val Ala Ile Phe Ser Ala Asp Ile Pro Ile Lys Arg  
1105 1110 1115 1120

Ser Phe Leu Arg Arg Trp Thr Leu Asp Pro Ser Leu Glu Asp Leu Asp  
1125 1130 1135

Ile Arg Thr Ile Ile Asp Trp Gly Tyr Tyr Arg Glu Arg Leu Gly Ser  
1140 1145 1150

Ala Ile Gln Lys Ile Ile Thr Ile Pro Ala Ala Leu Gln Gly Val Ser  
1155 1160 1165

Asn Pro Val Pro Arg Val Glu His Pro Asp Trp Leu Lys Arg Lys Ile  
1170 1175 1180

Ala Thr Lys Glu Asp Lys Phe Lys Gln Thr Ser Leu Thr Lys Phe Phe  
1185 1190 1195 1200

Ser Lys Thr Lys Asn Val Pro Thr Met Gly Lys Ile Lys Asp Ile Glu  
1205 1210 1215

Asp Leu Phe Glu Pro Thr Val Glu Glu Asp Asn Ala Lys Ile Lys Ile  
1220 1225 1230

Ala Arg Thr Thr Lys Lys Lys Ala Val Ser Lys Arg Lys Arg Asn Gln

1235

1240

1245

Leu Thr Asn Glu Glu Asp Pro Leu Val Leu Pro Ser Glu Ile Pro Ser

1250

1255

1260

Met Asp Glu Asp Tyr Val Gly Trp Leu Asn Tyr Gln Lys Ile Lys Trp

1265

1270

1275

1280

Lys Ile Gln Ala Arg Asp Arg Lys Arg Arg Asp Gln Leu Phe Gly Asn

1285

1290

1295

Thr Asn Ser Ser Arg Glu Arg Ser Ala Leu Gly Ser Met Ile Arg Lys

1300

1305

1310

Gln Ala Glu Ser Tyr Ala Asn Ser Thr Trp Glu Val Leu Gln Tyr Lys

1315

1320

1325

Asp Ser Gly Glu Pro Gly Val Leu Glu Val Phe Val Thr Ile Asn Gly

1330

1335

1340

Lys Val Gln Asn Ile Thr Phe His Ile Pro Lys Thr Ile Tyr Met Lys

1345

1350

1355

1360

Phe Lys Ser Gln Thr Met Pro Leu Gln Lys Ile Lys Asn Cys Leu Ile

1365

1370

1375

Glu Lys Ser Ser Ala Ser Leu Pro Asn Asn Pro Lys Thr Ser Asn Pro

1380

1385

1390

Ala Gly Gly Gln Leu Phe Lys Ile Thr Leu Pro Glu Ser Val Phe Leu  
1395 1400 1405

Glu Glu Lys Glu Asn Cys Thr Ser Ile Phe Asn Asp Glu Asn Val Leu  
1410 1415 1420

Gly Val Phe Glu Gly Thr Ile Thr Pro His Gln Arg Ala Ile Met Asp  
1425 1430 1435 1440

Leu Gly Ala Ser Val Thr Phe Arg Ser Lys Ala Met Gly Ala Leu Gly  
1445 1450 1455

Lys Gly Ile Gln Gln Gly Phe Glu Met Lys Asp Leu Ser Met Ala Glu  
1460 1465 1470

Asn Glu Arg Tyr Leu Ser Gly Phe Ser Met Asp Ile Gly Tyr Leu Leu  
1475 1480 1485

His Phe Pro Thr Ser Ile Gly Tyr Glu Phe Phe Ser Leu Phe Lys Ser  
1490 1495 1500

Trp Gly Asp Thr Ile Thr Ile Leu Val Leu Lys Pro Ser Asn Gln Ala  
1505 1510 1515 1520

Gln Glu Ile Asn Ala Ser Ser Leu Gly Gln Ile Tyr Lys Gln Met Phe  
1525 1530 1535

Glu Lys Lys Lys Gly Lys Ile Glu Thr Tyr Ser Tyr Leu Val Asp Ile  
1540 1545 1550

Lys Glu Asp Ile Asn Phe Glu Phe Val Tyr Phe Thr Asp Ile Ser Lys  
1555 1560 1565

Leu Tyr Arg Arg Leu Ser Gln Glu Thr Thr Lys Leu Lys Glu Glu Arg  
1570 1575 1580

Gly Leu Gln Phe Leu Leu Leu Leu Gln Ser Pro Phe Ile Thr Lys Leu  
1585 1590 1595 1600

Leu Gly Thr Ile Arg Leu Leu Asn Gln Met Pro Ile Val Lys Leu Ser  
1605 1610 1615

Leu Asn Glu Val Leu Leu Pro Gln Leu Asn Trp Gln Pro Thr Leu Leu  
1620 1625 1630

Lys Lys Leu Val Asn His Val Leu Ser Ser Gly Ser Trp Ile Ser His  
1635 1640 1645

Leu Ile Lys Leu Ser Gln Tyr Ser Asn Ile Pro Ile Cys Asn Leu Arg  
1650 1655 1660

Leu Asp Ser Met Asp Tyr Ile Ile Asp Val Leu Tyr Ala Arg Lys Leu  
1665 1670 1675 1680

Lys Lys Glu Asn Ile Val Leu Trp Trp Asn Glu Lys Ala Pro Leu Pro  
1685 1690 1695

Asp His Gly Gly Ile Gln Asn Asp Phe Asp Leu Asn Thr Ser Trp Ile



1700

1705

1710

Met Asn Asp Ser Glu Phe Pro Lys Ile Asn Asn Ser Gly Val Tyr Asp

1715

1720

1725

Asn Val Val Leu Asp Val Gly Val Asp Asn Leu Thr Val Asn Thr Ile

1730

1735

1740

Leu Thr Ser Ala Leu Ile Asn Asp Ala Glu Gly Ser Asp Leu Val Asn

1745

1750

1755

1760

Asn Asn Met Gly Ile Asp Asp Lys Asp Ala Val Ile Asn Ser Pro Ser

1765

1770

1775

Glu Phe Val His Asp Ala Phe Ser Asn Asp Ala Leu Asn Val Leu Arg

1780

1785

1790

Gly Met Leu Lys Glu Trp Trp Asp Glu Ala Leu Lys Glu Asn Ser Thr

1795

1800

1805

Ala Asp Leu Leu Val Asn Ser Leu Ala Ser Trp Val Gln Asn Pro Asn

1810

1815

1820

Ala Lys Leu Phe Asp Gly Leu Leu Arg Tyr His Val His Asn Leu Thr

1825

1830

1835

1840

Lys Lys Ala Leu Leu Gln Leu Val Asn Glu Phe Ser Ala Leu Gly Ser

1845

1850

1855

Thr Ile Val Tyr Ala Asp Arg Asn Gln Ile Leu Ile Lys Thr Asn Lys  
1860 1865 1870

Tyr Ser Pro Glu Asn Cys Tyr Ala Tyr Ser Gln Tyr Met Met Lys Ala  
1875 1880 1885

Val Arg Thr Asn Pro Met Phe Ser Tyr Leu Asp Leu Asn Ile Lys Arg  
1890 1895 1900

Tyr Trp Asp Leu Leu Ile Trp Met Asp Lys Phe Asn Phe Ser Gly Leu  
1905 1910 1915 1920

Ala Cys Ile Glu Ile Glu Glu Lys Glu Asn Gln Asp Tyr Thr Ala Val  
1925 1930 1935

Ser Gln Trp Gln Leu Lys Lys Phe Leu Ser Pro Ile Tyr Gln Pro Glu  
1940 1945 1950

Phe Glu Asp Trp Met Met Ile Ile Leu Asp Ser Met Leu Lys Thr Lys  
1955 1960 1965

Gln Ser Tyr Leu Lys Leu Asn Ser Gly Thr Gln Arg Pro Thr Gln Ile  
1970 1975 1980

Val Asn Val Lys Lys Gln Asp Lys Glu Asp Ser Val Glu Asn Ser Leu  
1985 1990 1995 2000

Asn Gly Phe Ser His Leu Phe Ser Lys Pro Leu Met Lys Arg Val Lys  
2005 2010 2015

Lys Leu Phe Lys Asn Gln Gln Glu Phe Ile Leu Asp Pro Gln Tyr Glu  
2020 2025 2030

Ala Asp Tyr Val Ile Pro Val Leu Pro Gly Ser His Leu Asn Val Lys  
2035 2040 2045

Asn Pro Leu Leu Glu Leu Val Lys Ser Leu Cys His Val Met Leu Leu  
2050 2055 2060

Ser Lys Ser Thr Ile Leu Glu Ile Arg Thr Leu Arg Lys Glu Leu Leu  
2065 2070 2075 2080

Lys Ile Phe Glu Leu Arg Glu Phe Ala Lys Val Ala Glu Phe Lys Asp  
2085 2090 2095

Pro Ser Leu Ser Leu Val Val Pro Asp Phe Leu Cys Glu Tyr Cys Phe  
2100 2105 2110

Phe Ile Ser Asp Ile Asp Phe Cys Lys Ala Ala Pro Glu Ser Ile Phe  
2115 2120 2125

Ser Cys Val Arg Cys His Lys Ala Phe Asn Gln Val Leu Leu Gln Glu  
2130 2135 2140

His Leu Ile Gln Lys Leu Arg Ser Asp Ile Glu Ser Tyr Leu Ile Gln  
2145 2150 2155 2160

Asp Leu Arg Cys Ser Arg Cys His Lys Val Lys Arg Asp Tyr Met Ser

2165

2170

2175

Ala His Cys Pro Cys Ala Gly Ala Trp Glu Gly Thr Leu Pro Arg Glu

2180

2185

2190

Ser Ile Val Gln Lys Leu Asn Val Phe Lys Gln Val Ala Lys Tyr Tyr

2195

2200

2205

Gly Phe Asp Ile Leu Leu Ser Cys Ile Ala Asp Leu Thr Ile

2210

2215

2220

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 5

Gln Ile Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Asn

1

5

10

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Haemophilus influenzae

<400> 6

Gln Ile Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Asn

1                      5                      10

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> *Salmonella typhimurium*

<400> 7

Gln Ile Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Asn

1                      5                      10

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> *Vibrio cholerae*

<400> 8

Ile Val Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Asn

1                      5                      10

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 9

Ser Val Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Pro  
1 5 10

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 10

Gln Ile Ile Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Leu Tyr  
1 5 10

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 11

Phe Val Cys Leu Asp Cys Glu Thr Thr Gly Leu Asp  
1 5 10

<210> 12

<211> 12

<212> PRT

<213> *Streptomyces coelicolor*

<400> 12

Leu Ala Ala Phe Asp Thr Glu Thr Thr Gly Val Asp

1

5

10

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> *Shigella flexneri* 2a str. 301

<400> 13

Gln Ile Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr Gly Met Asn

1

5

10

<210> 14

<211> 12

<212> PRT

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 14

Tyr Val Val Phe Asp Val Glu Thr Thr Gly Leu Ser

1

5

10

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> *Bacillus subtilis*

<400> 15

Tyr Val Val Phe Asp Val Glu Thr Thr Gly Leu Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Mycoplasma pulmonis

<400> 16

Tyr Val Val Tyr Asp Ile Glu Thr Thr Gly Leu Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 12

<212> PRT

<213> Mycoplasma genitalium

<400> 17

Phe Val Ile Phe Asp Ile Glu Thr Thr Gly Leu His

1 5 10

<210> 18

<211> 12

<212> PRT



<213> *Mycoplasma pneumoniae*

<400> 18

Phe Val Ile Phe Asp Ile Glu Thr Thr Gly Leu His  
1 5 10

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 19

Ile Met Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Ile  
1 5 10

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 20

Val Met Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Pro Pro  
1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 21

Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

Val Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro

1 5 10

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Val Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro

1 5 10

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 25

Ile Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 26

<211> 12

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 26

Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 27

Val Cys Ala Phe Asp Ile Glu Thr Val Lys Leu Pro

1

5

10

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 28

Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1

5

10

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

<400> 29

Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1

5

10

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Glycine max

<400> 30

Ile Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> Drosophila melanogaster

<400> 31

Ile Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> Drosophila melanogaster

<400> 32

Val Leu Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro

1 5 10

<210> 33

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Mutated pol delta

<400> 33

atcatgtcct ttgctatcgc ttgtgctggt aggatt

36

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Mutated pol delta

<400> 34

Ile Met Ser Phe Ala Ile Ala Cys Ala Gly Arg Ile

1

5

10

<210> 35

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Mutated pol epsilon

<400> 35

gtaatggcat ttgctatagc taccacgaag ccgcct

36

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Mutated pol epsilon

<400> 36

Val Met Ala Phe Ala Ile Ala Thr Thr Lys Pro Pro

1

5

10

<210> 37

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 37

CCCGAGCTCA TGAGTGAAAA AAGATCCCTT 30

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 38

CCCGCGGCCG CTTACCATTT GCTTAATTGT 30

<210> 39

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 39

CCCGAGCTCA TGATGTTTGG CAAGAAAAAA 30



<210> 40

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 40

CCCGCGGCCG CTCATATGGT CAAATCAGCA

30

<210> 41

<211> 1592

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<400> 41

gaattcaaat acaaaaaaac cgcaaaatta aaaatcttgc ggctctctga actcattttc 60  
atgagtgaat agtggcggaa cggacgggac tcgaaccgc gacccctgc gtgacaggca 120  
ggtattcaac cgactgaact accgctccgc gttgtgttcc gttgggaacg aggcgaaatag 180  
ttacgaattg cctcgacctc gtcaacggtt tttctatctt ttgaatcggt tgctgcaaaa 240  
atcgcccaag tcgtatttt tagcgctttt cacaggtatt tatgctcgcc agaggcaact 300  
tccgcctttc ttctgcacca gatcgagacg ggcttcatga gctgcaatct cttcatctgt 360  
cgcaaaaaca acgcgtaact tacttgctg acgtacaatg cgctgaattg ttgcttcacc 420  
ttgttgctgt tgtgtctctc cttccatcgc aaaagccatc gacgtttgac caccggatcat 480  
cgccagataa acttccgcaa ggatctgggc atcgagtaat gccccgtgca gcgttcgttt 540  
actgttatct atttcgtagc gagcacataa cgcatcgagg ctgttgcgct taccgggaaa 600

cattttcctc gccaccgcaa ggctatcggg gaccttacag aaagtattgg tcttcggaat 660  
atcgcgctta agcaacgaaa actcgtagtc cataaagccg atatcgaacg ctgcgttatg 720  
gatcaccaac tccgcgccgc gaatatagtc catgaactca tcggctactt cggcaaacgt 780  
gggcttatcg agcaaaaatt catcggcaat accatgtacg ccaaaggctt ccggatccac 840  
cagccgatcg ggtttgagat aaacatggaa gttattgccc gtcaggcgac ggttcaccac 900  
ttcaacggca ccaatctcaa tgatcttggt gccttcacatg tgcgcaccaa tctggttcat 960  
accgggtggtt tcggtatcga gaacgatctg gcgtgtaatt gcagtgtca tagcgggtcat 1020  
ttatgtcaga cttgtcgttt tacagttcga ttcaattaca ggaagtctac cagagatgct 1080  
taaacaggta gaaattttca ccgatgggtt gtgtctgggc aatccaggac ctgggggtta 1140  
cggcgcctatt ttacgctatc gcggacgcga gaaaaccttt agcgctggct acaccgcac 1200  
caccaacaac cgtatggagt tgatggccgc tattgtcgcg ctggaggcgt taaaagaaca 1260  
ttgcgaagtc attttgagta ccgacagcca gtatgtccgc cagggtatca cccagtggat 1320  
ccataactgg aaaaaacgtg gctggaaaac cgcagacaaa aaaccagtaa aaaatgtcga 1380  
tctctggcaa cgtcttgatg ctgcattggg gcagcatcaa atcaaattggg aatgggttaa 1440  
aggccatgcc ggacaccgga aaaacgaacg ctgtgatgaa ctggctcgtg ccgcggcgat 1500  
gaatcccaca ctggaagata caggctacca agttgaagtt taagcctgtg gtttacgaca 1560  
ttgccgggtg gctccaaccg cctagcgaat tc 1592

<210> 42

<211> 243

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 42

Met Ser Thr Ala Ile Thr Arg Gln Ile Val Leu Asp Thr Glu Thr Thr

1

5

10

15

Gly Met Asn Gln Ile Gly Ala His Tyr Glu Gly His Lys Ile Ile Glu

20	25	30
Ile Gly Ala Val Glu Val Val Asn Arg Arg Leu Thr Gly Asn Asn Phe		
35	40	45
His Val Tyr Leu Lys Pro Asp Arg Leu Val Asp Pro Glu Ala Phe Gly		
50	55	60
Val His Gly Ile Ala Asp Glu Phe Leu Leu Asp Lys Pro Thr Phe Ala		
65	70	75
80		
Glu Val Ala Asp Glu Phe Met Asp Tyr Ile Arg Gly Ala Glu Leu Val		
85	90	95
Ile His Asn Ala Ala Phe Asp Ile Gly Phe Met Asp Tyr Glu Phe Ser		
100	105	110
Leu Leu Lys Arg Asp Ile Pro Lys Thr Asn Thr Phe Cys Lys Val Thr		
115	120	125
Asp Ser Leu Ala Val Ala Arg Lys Met Phe Pro Gly Lys Arg Asn Ser		
130	135	140
Leu Asp Ala Leu Cys Ala Arg Tyr Glu Ile Asp Asn Ser Lys Arg Thr		
145	150	155
160		
Leu His Gly Ala Leu Leu Asp Ala Gln Ile Leu Ala Glu Val Tyr Leu		
165	170	175

Ala Met Thr Gly Gly Gln Thr Ser Met Ala Phe Ala Met Glu Gly Glu  
 180 185 190

Thr Gln Gln Gln Gln Gly Glu Ala Thr Ile Gln Arg Ile Val Arg Gln  
 195 200 205

Ala Ser Lys Leu Arg Val Val Phe Ala Thr Asp Glu Glu Ile Ala Ala  
 210 215 220

His Glu Ala Arg Leu Asp Leu Val Gln Lys Lys Gly Gly Ser Cys Leu  
 225 230 235 240

Trp Arg Ala

<210> 43

<211> 4866

<212> DNA

<213> Bacillus subtilis

<400> 43

ggtaccgctt cacttatgat gtttttaggg agggatactg tcttaatgga acagttatca 60  
 gtaaacagaa ggcagtttca aattcttctg cagcagatta atatgacaga tgataccttc 120  
 atgacatact ttgaacatgg cgagattaaa aagctgacaa ttcacaaagc ttctaagtct 180  
 tggcattttc attttcaatt taaatctttg ctgccttttc aaatatatga cacattaaca 240  
 acgaggctga cgcaatcggt tgcccacata gcaaaagtga catcttcaat tgaagttcag 300  
 gatgccgagg tcagtgaaag tatcgttcaa gactactggg cacgctgcat tgaagaactg 360  
 cagggcattt cgccgccgat tatcagtcct ttaaaccagc aaaaaccgaa gctgaagggc 420

aataaactga ttgtcaaaac caaaacagat acagaagcgg ctgcgctaaa gaacaaatac 480  
agttccatga ttcaagcaga ataccgtcaa tttggctttc cggatcttca gcttgatgct 540  
gaaatatttg tatccgagca agaagttcaa aagtttcggg agcaaaagct tgcggaagac 600  
caagagcggg ctatgcaggc cttgattgaa atggagaaga aagataaaga aagtgatgaa 660  
gaccaagcac catctggtcc tcttgttatc ggttatcaaa ttaaagataa cgaggaaatc 720  
cgaacacttg acagcatcat ggacgaagaa cggagaatta cggccaagg ttatgtgttt 780  
gatgtggaga cgcgcgagct gaagagcggg cgcacgctgt gtatcttcaa aattacagac 840  
tatacaaata gtattttgat caaaatgttt gcacgtgaaa aagaagatgc ggcgctgatg 900  
aagtctctga aaaaaggaat gtgggtaaaa gcacgcggaa gcattcaaaa tgatacattt 960  
gtcagagacc ttgtcatgat cgcaaagac gtaaagcaa taaaagcaaa aaccctgtaa 1020  
gattcagcac ctgaaggaga aaaaagagtg gaattgcatc ttcattcccc aatgagccaa 1080  
atggatgctg ttacgggtat cggaaagctt gtcgaacagg cgaaaaaatg ggggcatgag 1140  
gccatcgctt tgaccgacca tgctgtcgtt caatccttcc ctgatgcgta ttctgcggcc 1200  
aaaaagcatg gaattaaaat gatttacggg atggaagcga atctcgtgga tgatggcgtg 1260  
ccaattgctt ataatgccgc acatcgtctg ctcgaagaag aaacatatgt tgtttttgac 1320  
gttgagacga caggattgtc tgctgtatac gataaccatta ttgagctggc tgcagtaaaa 1380  
gtaaaaggcg gagaaattat tgataaattt gaggcgtttg cgaacccgca tcgtccgctt 1440  
tccgccacaa tcatagagct gacagggatc acagatgata tgctacaaga cgctccggat 1500  
gtcgtagatg taataagaga tttcagagaa tggattggcg atgatattct tgtcgtcat 1560  
aatgcaagct ttgatatggg attcttaa atgtacata aaaaacttct tgaagtcgaa 1620  
aaagctaaaa acccagtcac tgatacgctt gaacttggac gttttctcta tccggaattt 1680  
aagaaccacc ggttgaacac actttgtaaa aagtttgata tcgagctcac acagcatcac 1740  
cgtgcgatct atgatactga ggcaaccgct tatttgcttc tgaaaatgct gaaagacgca 1800  
gctgaaaaag gtattcagta ccatgatgag ttgaatgaaa atatgggtca gtccaatgct 1860  
tatcaaagat caagaccgta tcatgcaaca ttacttgccg tgaacagcac gggacttaaa 1920  
aatttattta agcttgtgtc actttctcat attcattatt tttacagagt gccgcgtatt 1980  
ccgagatctc agcttgagaa atacagggaa gggcttctga tcggttctgc ttgtgacagg 2040  
ggagagggtt ttgagggaat gatgcaaaaa tcgcctgaag aggtggaaga tatcgcgtca 2100  
ttctatgatt accttgaggt tcagccgcct gaagtgtatc gtcacttgct ggagcttgaa 2160

ctggtccgtg atgaaaaagc gctgaaagaa attattgcga atatcacgaa gctgggggaa 2220  
aagcttaata aaccggttgt tgctacggga aatgttcatt acttgaatga tgaggataaa 2280  
atctacagaa agattttaat atcctcaciaa ggcggggcaa atccgctgaa taggcatgaa 2340  
ctgccgaaag tgcatttcag aacgacagac gaaatgcttg aagctttttc tttcttaggt 2400  
gaagaaaaag cgaaggagat cgtagtcacc aatacccaaa aggttgcttc tttagttgat 2460  
gacatcaagc cgattaaaga tgatttatac acgccgaaaa tcgaaggcgc tgatgaagag 2520  
atcagagaaa tgagctatca gcgtgcaaga agcatttacg gggaagagct gcctgaaatt 2580  
gtcgaagcgc ggattgaaaa agagttaaag agtattattg gccacggatt tgctgttatt 2640  
tacttgatct ctcacaaact tgtaaaacgt tcactagatg acgggtatct cgttggttcc 2700  
cgtggttccg taggatcttc attagttgcg acacttactg agattactga ggtaaaccgc 2760  
ctgccgccgc actatgtttg tcctgagtgc cagcattctg agttctttaa tgacggttct 2820  
gtcggttctg gttttgacct gcctgacaag acatgccctc attgcggaac gcctttgaaa 2880  
aaagacggcc atgatattcc atttgaaacg ttcttaggat ttaaagggga caaagtacct 2940  
gatatcgatt tgaacttctc aggggaatat cagccgcaag cacacaatta cacaaaagta 3000  
ttgttcggag aagacaatgt atatcgtgcg ggaacaatag gcacggtggc agaaaaaca 3060  
gcctacgggtt atgtaaaagg ctatgccgga gacaacaatc ttcatatgcg cggtgccgaa 3120  
atagatcggc tcgtacaggg atgcacaggt gtaaaacgta caactggaca gcaccctggc 3180  
gggtattatcg tagttccgga ttatatggat atttatgatt tttcaccgat ccagttcccg 3240  
gcagatgcca caggttcaga gtggaaaacg actcattttg atttcactc catccatgac 3300  
aacctgttaa aacttgatat tctcggacac gatgaccgga ctgttattcg gatgcttcaa 3360  
gacttaagcg gaatagatcc gaaaacaatt ccgacggatg atcctgaagt gatgaagatc 3420  
ttccaggga ccgaatcact cggtgtgact gaagaacaga ttggctgtaa aacgggcact 3480  
cttggaattc ctgaattcgg aaccgattt gtccggcaga tgcttgaaga taaaagccg 3540  
accacttttt ctgagctcgt tcagatttca ggcttgtctc acggaactga tgtatggctt 3600  
ggcaatgcac aggagctcat ccacaataat atttgtgagc tgagtgaggt tatcggctgc 3660  
cgtgatgaca ttatggttta tttaatctat caaggccttg agccgtccct tgcctttaaa 3720  
atcatggaat tcgtgcgtaa aggaaaagga ttaacgcctg aatgggaaga agaaatgaaa 3780  
aataacaatg tcccagactg gtatattgat tcctgtaaaa agattaaata catgttcccg 3840  
aaagcccacg ccgcggcata tgtcttaatg gcagtccgca ttgcttactt taaagtgcac 3900

catgctcttt tgtattatgc ggcttatttt accgttcgtg cagatgactt tgatattgat 3960  
 acaatgatca agggctctac agcaatcaga gcggtaatgg aggatataaa cgctaaagga 4020  
 cttgatgctt caccgaagga aaagaacctt ctgactgttt tagaattagc gcttgagatg 4080  
 tgtgagagag gctattcatt ccaaaaagtc gatttatatc gctccagcgc cacagagttt 4140  
 attattgacg gcaacagtct tattccgccg ttttaactcta ttccagggtt agggacgaac 4200  
 gctgctttga acattgtaaa agctcgcgaa gaaggcgaat tcctctcaaa agaagatttg 4260  
 caaaagagag ggaaagtatc aaaaacgatt ttagagtact tagatcgcca tggctgtctg 4320  
 gagtactgc ctgatcaaaa ccaattgtca ctgttcta atggaaagca gaatttctca 4380  
 gaaattctgc ttctatgcat acataagcgc aaaaagtgcc atcgtaatat tagagtttct 4440  
 gtcacttgct taggtatgaa ggtaagcgta tatccatttg caataaaaat atggttatgg 4500  
 tatagtttta ttggaaatgc taacgattac cgaggcaaag agtggggaaa cccgctcttt 4560  
 tgtattgaac aggagaattt tgtctcgaca tgttcacgt ttacttttta gcccctgctc 4620  
 ttttgaagca gggtttttat gcagagtgc gagacgaata tgagatcgac agcacaagga 4680  
 ggaagaacat gagcaaaaaa gtgactgaca ccgttcaaga aatggctcag ccaatcgtag 4740  
 acagccttca gctggaactc gttgacattg aatttgtcaa agagggccaa agctggttcc 4800  
 ttgcggtggt tattgattcc gatgacggtg tggatattga ggaatgtgcc aaagtaagcg 4860  
 aagctt 4866

<210> 44

<211> 1437

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 44

Met Glu Gln Leu Ser Val Asn Arg Arg Gln Phe Gln Ile Leu Leu Gln

1

5

10

15

Gln Ile Asn Met Thr Asp Asp Thr Phe Met Thr Tyr Phe Glu His Gly

20	25	30
Glu Ile Lys Lys Leu Thr Ile His Lys Ala Ser Lys Ser Trp His Phe		
35	40	45
His Phe Gln Phe Lys Ser Leu Leu Pro Phe Gln Ile Tyr Asp Thr Leu		
50	55	60
Thr Thr Arg Leu Thr Gln Ser Phe Ala His Ile Ala Lys Val Thr Ser		
65	70	75
Ser Ile Glu Val Gln Asp Ala Glu Val Ser Glu Ser Ile Val Gln Asp		
85	90	95
Tyr Trp Ser Arg Cys Ile Glu Glu Leu Gln Gly Ile Ser Pro Pro Ile		
100	105	110
Ile Ser Leu Leu Asn Gln Gln Lys Pro Lys Leu Lys Gly Asn Lys Leu		
115	120	125
Ile Val Lys Thr Lys Thr Asp Thr Glu Ala Ala Ala Leu Lys Asn Lys		
130	135	140
Tyr Ser Ser Met Ile Gln Ala Glu Tyr Arg Gln Phe Gly Phe Pro Asp		
145	150	155
Leu Gln Leu Asp Ala Glu Ile Phe Val Ser Glu Gln Glu Val Gln Lys		
165	170	175



Phe Arg Glu Gln Lys Leu Ala Glu Asp Gln Glu Arg Ala Met Gln Ala  
180 185 190

Leu Ile Glu Met Glu Lys Lys Asp Lys Glu Ser Asp Glu Asp Gln Ala  
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Leu Val Ile Gly Tyr Gln Ile Lys Asp Asn Glu Glu  
210 215 220

Ile Arg Thr Leu Asp Ser Ile Met Asp Glu Glu Arg Arg Ile Thr Val  
225 230 235 240

Gln Gly Tyr Val Phe Asp Val Glu Thr Arg Glu Leu Lys Ser Gly Arg  
245 250 255

Thr Leu Cys Ile Phe Lys Ile Thr Asp Tyr Thr Asn Ser Ile Leu Ile  
260 265 270

Lys Met Phe Ala Arg Glu Lys Glu Asp Ala Ala Leu Met Lys Ser Leu  
275 280 285

Lys Lys Gly Met Trp Val Lys Ala Arg Gly Ser Ile Gln Asn Asp Thr  
290 295 300

Phe Val Arg Asp Leu Val Met Ile Ala Asn Asp Val Asn Glu Ile Lys  
305 310 315 320

Ala Lys Thr Arg Glu Asp Ser Ala Pro Glu Gly Glu Lys Arg Val Glu  
325 330 335

Leu His Leu His Ser Pro Met Ser Gln Met Asp Ala Val Thr Gly Ile  
340 345 350

Gly Lys Leu Val Glu Gln Ala Lys Lys Trp Gly His Glu Ala Ile Ala  
355 360 365

Leu Thr Asp His Ala Val Val Gln Ser Phe Pro Asp Ala Tyr Ser Ala  
370 375 380

Ala Lys Lys His Gly Ile Lys Met Ile Tyr Gly Met Glu Ala Asn Leu  
385 390 395 400

Val Asp Asp Gly Val Pro Ile Ala Tyr Asn Ala Ala His Arg Leu Leu  
405 410 415

Glu Glu Glu Thr Tyr Val Val Phe Asp Val Glu Thr Thr Gly Leu Ser  
420 425 430

Ala Val Tyr Asp Thr Ile Ile Glu Leu Ala Ala Val Lys Val Lys Gly  
435 440 445

Gly Glu Ile Ile Asp Lys Phe Glu Ala Phe Ala Asn Pro His Arg Pro  
450 455 460

Leu Ser Ala Thr Ile Ile Glu Leu Thr Gly Ile Thr Asp Asp Met Leu  
465 470 475 480

Gln Asp Ala Pro Asp Val Val Asp Val Ile Arg Asp Phe Arg Glu Trp

485

490

495

Ile Gly Asp Asp Ile Leu Val Ala His Asn Ala Ser Phe Asp Met Gly

500

505

510

Phe Leu Asn Val Ala Tyr Lys Lys Leu Leu Glu Val Glu Lys Ala Lys

515

520

525

Asn Pro Val Ile Asp Thr Leu Glu Leu Gly Arg Phe Leu Tyr Pro Glu

530

535

540

Phe Lys Asn His Arg Leu Asn Thr Leu Cys Lys Lys Phe Asp Ile Glu

545

550

555

560

Leu Thr Gln His His Arg Ala Ile Tyr Asp Thr Glu Ala Thr Ala Tyr

565

570

575

Leu Leu Leu Lys Met Leu Lys Asp Ala Ala Glu Lys Gly Ile Gln Tyr

580

585

590

His Asp Glu Leu Asn Glu Asn Met Gly Gln Ser Asn Ala Tyr Gln Arg

595

600

605

Ser Arg Pro Tyr His Ala Thr Leu Leu Ala Val Asn Ser Thr Gly Leu

610

615

620

Lys Asn Leu Phe Lys Leu Val Ser Leu Ser His Ile His Tyr Phe Tyr

625

630

635

640

Arg Val Pro Arg Ile Pro Arg Ser Gln Leu Glu Lys Tyr Arg Glu Gly  
645 650 655

Leu Leu Ile Gly Ser Ala Cys Asp Arg Gly Glu Val Phe Glu Gly Met  
660 665 670

Met Gln Lys Ser Pro Glu Glu Val Glu Asp Ile Ala Ser Phe Tyr Asp  
675 680 685

Tyr Leu Glu Val Gln Pro Pro Glu Val Tyr Arg His Leu Leu Glu Leu  
690 695 700

Glu Leu Val Arg Asp Glu Lys Ala Leu Lys Glu Ile Ile Ala Asn Ile  
705 710 715 720

Thr Lys Leu Gly Glu Lys Leu Asn Lys Pro Val Val Ala Thr Gly Asn  
725 730 735

Val His Tyr Leu Asn Asp Glu Asp Lys Ile Tyr Arg Lys Ile Leu Ile  
740 745 750

Ser Ser Gln Gly Gly Ala Asn Pro Leu Asn Arg His Glu Leu Pro Lys  
755 760 765

Val His Phe Arg Thr Thr Asp Glu Met Leu Glu Ala Phe Ser Phe Leu  
770 775 780

Gly Glu Glu Lys Ala Lys Glu Ile Val Val Thr Asn Thr Gln Lys Val  
785 790 795 800

Ala Ser Leu Val Asp Asp Ile Lys Pro Ile Lys Asp Asp Leu Tyr Thr  
805 810 815

Pro Lys Ile Glu Gly Ala Asp Glu Glu Ile Arg Glu Met Ser Tyr Gln  
820 825 830

Arg Ala Arg Ser Ile Tyr Gly Glu Glu Leu Pro Glu Ile Val Glu Ala  
835 840 845

Arg Ile Glu Lys Glu Leu Lys Ser Ile Ile Gly His Gly Phe Ala Val  
850 855 860

Ile Tyr Leu Ile Ser His Lys Leu Val Lys Arg Ser Leu Asp Asp Gly  
865 870 875 880

Tyr Leu Val Gly Ser Arg Gly Ser Val Gly Ser Ser Leu Val Ala Thr  
885 890 895

Leu Thr Glu Ile Thr Glu Val Asn Pro Leu Pro Pro His Tyr Val Cys  
900 905 910

Pro Glu Cys Gln His Ser Glu Phe Phe Asn Asp Gly Ser Val Gly Ser  
915 920 925

Gly Phe Asp Leu Pro Asp Lys Thr Cys Pro His Cys Gly Thr Pro Leu  
930 935 940

Lys Lys Asp Gly His Asp Ile Pro Phe Glu Thr Phe Leu Gly Phe Lys

945	950	955	960
Gly Asp Lys Val Pro Asp Ile Asp Leu Asn Phe Ser Gly Glu Tyr Gln			
	965	970	975
Pro Gln Ala His Asn Tyr Thr Lys Val Leu Phe Gly Glu Asp Asn Val			
	980	985	990
Tyr Arg Ala Gly Thr Ile Gly Thr Val Ala Glu Lys Thr Ala Tyr Gly			
	995	1000	1005
Tyr Val Lys Gly Tyr Ala Gly Asp Asn Asn Leu His Met Arg Gly Ala			
	1010	1015	1020
Glu Ile Asp Arg Leu Val Gln Gly Cys Thr Gly Val Lys Arg Thr Thr			
	1025	1030	1035
			1040
Gly Gln His Pro Gly Gly Ile Ile Val Val Pro Asp Tyr Met Asp Ile			
	1045	1050	1055
Tyr Asp Phe Ser Pro Ile Gln Phe Pro Ala Asp Ala Thr Gly Ser Glu			
	1060	1065	1070
Trp Lys Thr Thr His Phe Asp Phe His Ser Ile His Asp Asn Leu Leu			
	1075	1080	1085
Lys Leu Asp Ile Leu Gly His Asp Asp Pro Thr Val Ile Arg Met Leu			
	1090	1095	1100

Gln Asp Leu Ser Gly Ile Asp Pro Lys Thr Ile Pro Thr Asp Asp Pro  
1105 1110 1115 1120

Glu Val Met Lys Ile Phe Gln Gly Thr Glu Ser Leu Gly Val Thr Glu  
1125 1130 1135

Glu Gln Ile Gly Cys Lys Thr Gly Thr Leu Gly Ile Pro Glu Phe Gly  
1140 1145 1150

Thr Arg Phe Val Arg Gln Met Leu Glu Asp Thr Lys Pro Thr Thr Phe  
1155 1160 1165

Ser Glu Leu Val Gln Ile Ser Gly Leu Ser His Gly Thr Asp Val Trp  
1170 1175 1180

Leu Gly Asn Ala Gln Glu Leu Ile His Asn Asn Ile Cys Glu Leu Ser  
1185 1190 1195 1200

Glu Val Ile Gly Cys Arg Asp Asp Ile Met Val Tyr Leu Ile Tyr Gln  
1205 1210 1215

Gly Leu Glu Pro Ser Leu Ala Phe Lys Ile Met Glu Phe Val Arg Lys  
1220 1225 1230

Gly Lys Gly Leu Thr Pro Glu Trp Glu Glu Glu Met Lys Asn Asn Asn  
1235 1240 1245

Val Pro Asp Trp Tyr Ile Asp Ser Cys Lys Lys Ile Lys Tyr Met Phe  
1250 1255 1260

Pro Lys Ala His Ala Ala Ala Tyr Val Leu Met Ala Val Arg Ile Ala  
1265                      1270                      1275                      1280

Tyr Phe Lys Val His His Ala Leu Leu Tyr Tyr Ala Ala Tyr Phe Thr  
                         1285                      1290                      1295

Val Arg Ala Asp Asp Phe Asp Ile Asp Thr Met Ile Lys Gly Ser Thr  
                         1300                      1305                      1310

Ala Ile Arg Ala Val Met Glu Asp Ile Asn Ala Lys Gly Leu Asp Ala  
                         1315                      1320                      1325

Ser Pro Lys Glu Lys Asn Leu Leu Thr Val Leu Glu Leu Ala Leu Glu  
                         1330                      1335                      1340

Met Cys Glu Arg Gly Tyr Ser Phe Gln Lys Val Asp Leu Tyr Arg Ser  
1345                      1350                      1355                      1360

Ser Ala Thr Glu Phe Ile Ile Asp Gly Asn Ser Leu Ile Pro Pro Phe  
                         1365                      1370                      1375

Asn Ser Ile Pro Gly Leu Gly Thr Asn Ala Ala Leu Asn Ile Val Lys  
                         1380                      1385                      1390

Ala Arg Glu Glu Gly Glu Phe Leu Ser Lys Glu Asp Leu Gln Lys Arg  
                         1395                      1400                      1405

Gly Lys Val Ser Lys Thr Ile Leu Glu Tyr Leu Asp Arg His Gly Cys



1410

1415

1420

Leu Glu Ser Leu Pro Asp Gln Asn Gln Leu Ser Leu Phe

1425

1430

1435

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 1081

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;400&gt; 45

Met Asn Arg Ser Gly Ile Ser Lys Lys Arg Pro Pro Pro Ser Asn Thr

1

5

10

15

Pro Pro Pro Ala Gly Lys His Arg Ala Thr Gly Asp Ser Thr Pro Ser

20

25

30

Pro Ala Ile Gly Thr Leu Asp Asp Glu Phe Met Met Glu Glu Asp Val

35

40

45

Phe Leu Asp Glu Thr Leu Leu Tyr Gly Asp Glu Asp Glu Glu Ser Leu

50

55

60

Ile Leu Arg Asp Ile Glu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Ser Ala Trp Ala

65

70

75

80

Arg Pro Pro Leu Ser Pro Ala Tyr Leu Ser Asn Ser Gln Ile Phe Gln

85

90

95

Gln Leu Glu Ile Asp Ser Ile Ile Ala Glu Ser His Lys Glu Leu Leu  
100 105 110

Pro Gly Ser Ser Gly Gln Ala Pro Ile Ile Arg Met Phe Gly Val Thr  
115 120 125

Arg Glu Gly Asn Ser Val Cys Cys Phe Val His Gly Phe Glu Pro Tyr  
130 135 140

Phe Tyr Ile Ala Cys Pro Pro Gly Met Gly Pro Asp Asp Ile Ser Asn  
145 150 155 160

Phe His Gln Ser Leu Glu Gly Arg Met Arg Glu Ser Asn Lys Asn Ala  
165 170 175

Lys Val Pro Lys Phe Val Lys Arg Ile Glu Met Val Gln Lys Arg Ser  
180 185 190

Ile Met Tyr Tyr Gln Gln Gln Lys Ser Gln Thr Phe Leu Lys Ile Thr  
195 200 205

Val Ala Leu Pro Thr Met Val Ala Ser Cys Arg Gly Ile Leu Asp Arg  
210 215 220

Gly Leu Gln Ile Asp Gly Leu Gly Met Lys Ser Phe Gln Thr Tyr Glu  
225 230 235 240

Ser Asn Ile Leu Phe Val Leu Arg Phe Met Val Asp Cys Asp Ile Val

245	250	255
Gly Gly Asn Trp Ile Glu Val Pro Thr Gly Lys Tyr Lys Lys Asn Ala		
260	265	270
Arg Thr Leu Ser Tyr Cys Gln Leu Glu Phe His Cys Leu Tyr Ser Asp		
275	280	285
Leu Ile Ser His Ala Ala Glu Gly Glu Tyr Ser Lys Met Ala Pro Phe		
290	295	300
Arg Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys Gly His Phe		
305	310	315
320		
Pro Glu Ala Lys His Asp Pro Val Ile Gln Ile Ala Asn Leu Val Thr		
325	330	335
Leu Gln Gly Glu Asp His Pro Phe Val Arg Asn Val Met Thr Leu Lys		
340	345	350
Ser Cys Ala Pro Ile Val Gly Val Asp Val Met Ser Phe Glu Thr Glu		
355	360	365
Arg Glu Val Leu Leu Ala Trp Arg Asp Leu Ile Arg Asp Val Asp Pro		
370	375	380
Asp Ile Ile Ile Gly Tyr Asn Ile Cys Lys Phe Asp Leu Pro Tyr Leu		
385	390	395
400		

Ile Glu Arg Ala Ala Thr Leu Gly Ile Glu Glu Phe Pro Leu Leu Gly  
405 410 415

Arg Val Lys Asn Ser Arg Val Arg Val Arg Asp Ser Thr Phe Ser Ser  
420 425 430

Arg Gln Gln Gly Ile Arg Glu Ser Lys Glu Thr Thr Ile Glu Gly Arg  
435 440 445

Phe Gln Phe Asp Leu Ile Gln Ala Ile His Arg Asp His Lys Leu Ser  
450 455 460

Ser Tyr Ser Leu Asn Ser Val Ser Ala His Phe Leu Ser Glu Gln Lys  
465 470 475 480

Glu Asp Val His His Ser Ile Ile Thr Asp Leu Gln Asn Gly Asn Ala  
485 490 495

Glu Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys Leu Lys Asp Ala Tyr Leu  
500 505 510

Pro Gln Arg Leu Leu Asp Lys Leu Met Phe Ile Tyr Asn Tyr Val Glu  
515 520 525

Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Ile Ser Phe Leu Leu Ala Arg Gly  
530 535 540

Gln Ser Ile Lys Val Leu Ser Gln Leu Leu Arg Lys Gly Lys Gln Lys  
545 550 555 560

Asn Leu Val Leu Pro Asn Ala Lys Gln Ser Gly Ser Glu Gln Gly Thr  
565 570 575

Tyr Glu Gly Ala Thr Val Leu Glu Ala Arg Thr Gly Phe Tyr Glu Lys  
580 585 590

Pro Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ala Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Met Met  
595 600 605

Ala Tyr Asn Leu Cys Tyr Cys Thr Leu Val Thr Pro Glu Asp Val Arg  
610 615 620

Lys Leu Asn Leu Pro Pro Glu His Val Thr Lys Thr Pro Ser Gly Glu  
625 630 635 640

Thr Phe Val Lys Gln Thr Leu Gln Lys Gly Ile Leu Pro Glu Ile Leu  
645 650 655

Glu Glu Leu Leu Thr Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala Asp Leu Lys Glu  
660 665 670

Ala Lys Asp Pro Leu Glu Lys Ala Val Leu Asp Gly Arg Gln Leu Ala  
675 680 685

Leu Lys Ile Ser Ala Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Thr Val  
690 695 700

Gly Gln Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Ser Ser Val Thr Ser Tyr Gly

705                      710                      715                      720

Arg Gln Met Ile Glu Gln Thr Lys Lys Leu Val Glu Asp Lys Phe Thr  
725                      730                      735

Thr Leu Gly Gly Tyr Gln Tyr Asn Ala Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr  
740                      745                      750

Asp Ser Val Met Val Gln Phe Gly Val Ser Asp Val Glu Ala Ala Met  
755                      760                      765

Thr Leu Gly Arg Glu Ala Ala Glu His Ile Ser Gly Thr Phe Ile Lys  
770                      775                      780

Pro Ile Lys Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Phe Pro Tyr Leu Leu Ile  
785                      790                      795                      800

Asn Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Trp Thr Asn Pro Gln Gln Phe  
805                      810                      815

Asp Lys Met Asp Thr Lys Gly Ile Glu Thr Val Arg Arg Asp Asn Cys  
820                      825                      830

Leu Leu Val Lys Asn Leu Val Thr Glu Ser Leu Asn Lys Ile Leu Ile  
835                      840                      845

Asp Arg Asp Val Pro Gly Ala Ala Glu Asn Val Lys Lys Thr Ile Ser  
850                      855                      860

Asp Leu Leu Met Asn Arg Ile Asp Leu Ser Leu Leu Val Ile Thr Lys  
865 870 875 880

Gly Leu Thr Lys Thr Gly Asp Asp Tyr Glu Val Lys Ser Ala His Gly  
885 890 895

Glu Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Ala Ala Thr Ala Pro Asn  
900 905 910

Val Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Lys Ala Ala Lys Gly Ala  
915 920 925

Lys Ala Tyr Glu Arg Ser Glu Asp Pro Ile Tyr Val Leu Gln Asn Asn  
930 935 940

Ile Pro Ile Asp Pro Asn Tyr Tyr Leu Glu Asn Gln Ile Ser Lys Pro  
945 950 955 960

Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Val Leu Lys Asn Ala Ser Lys Glu Leu  
965 970 975

Leu His Gly Ser His Thr Arg Ser Ile Ser Ile Thr Thr Pro Ser Asn  
980 985 990

Ser Gly Ile Met Lys Phe Ala Lys Lys Gln Leu Ser Cys Val Gly Cys  
995 1000 1005

Lys Val Pro Ile Arg Tyr Phe Val Gln Trp Asn Thr Met Arg Lys Leu  
1010 1015 1020

Gln Gly Lys Arg Ser Arg Val Ile Leu Gln Lys Arg Val Ser Arg Tyr  
1025                      1030                      1035                      1040

Ala Ala Trp Leu Ser Leu Lys Arg Phe Leu Gly Gly Cys Gly His Ser  
                            1045                      1050                      1055

Ala Arg Ser Val Lys Ala Leu Phe Ile Lys Met Ser Cys Ala Pro Val  
                            1060                      1065                      1070

Glu Ile Val Gln Tyr Phe Thr Gly Glu  
                            1075                      1080

<210> 46

<211> 2154

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 46

Met Ser Gly Arg Arg Cys Asp Arg Arg Leu Asn Val Gln Lys Val Ser  
1                      5                      10                      15

Ala Ala Asp Glu Leu Glu Thr Lys Leu Gly Phe Gly Leu Phe Ser Gln  
                            20                      25                      30

Gly Glu Thr Arg Leu Gly Trp Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ser Ser Trp  
                            35                      40                      45



Glu Asp Ala Asp Thr Gly Lys Thr Phe Ser Cys Val Asp Leu Phe Phe  
50 55 60

Val Thr Gln Asp Gly Ser Ser Phe Lys Thr Lys Tyr Lys Phe Arg Pro  
65 70 75 80

Tyr Leu Tyr Ala Ala Thr Lys Asp Asn Met Glu Leu Glu Val Glu Ala  
85 90 95

Tyr Leu Arg Arg Arg Tyr Glu Arg Gln Val Ala Asp Ile Gln Ile Val  
100 105 110

His Lys Glu Asp Leu Tyr Leu Lys Asn His Leu Ser Gly Leu Gln Lys  
115 120 125

Lys Tyr Leu Lys Val Ser Phe Asp Thr Val Gln Gln Leu Val Glu Val  
130 135 140

Lys Arg Asp Leu Leu His Ile Val Glu Arg Asn Leu Ala Lys Phe Asn  
145 150 155 160

Ala Leu Glu Ala Tyr Glu Ser Ile Leu Ser Gly Lys Arg Glu Gln Arg  
165 170 175

Pro Gln Asp Cys Leu Asp Ser Val Val Asp Leu Arg Glu Tyr Asp Val  
180 185 190

Pro Tyr His Val Arg Phe Ala Ile Asp Asn Asp Val Arg Ser Gly Gln  
195 200 205

Trp Tyr Asn Val Ser Ile Ser Ser Thr Asp Val Ile Leu Glu Lys Arg  
210 215 220

Thr Asp Leu Leu Gln Arg Ala Glu Val Arg Val Cys Ala Phe Asp Ile  
225 230 235 240

Glu Thr Val Lys Leu Pro Leu Lys Phe Pro Asp Ala Glu Tyr Asp Gln  
245 250 255

Ile Met Met Ile Ser Tyr Met Val Asp Gly Gln Gly Phe Leu Ile Thr  
260 265 270

Asn Arg Glu Cys Val Gly Lys Asp Ile Glu Asp Leu Glu Tyr Thr Pro  
275 280 285

Lys Pro Glu Phe Glu Gly Tyr Phe Lys Val Thr Asn Val Thr Asn Glu  
290 295 300

Val Glu Leu Leu Arg Lys Trp Phe Ser His Met Gln Glu Leu Lys Pro  
305 310 315 320

Gly Ile Tyr Val Thr Tyr Asn Gly Asp Phe Phe Asp Trp Pro Phe Ile  
325 330 335

Glu Arg Arg Ala Ser His His Gly Ile Lys Met Asn Glu Glu Leu Gly  
340 345 350

Phe Arg Cys Asp Gln Asn Gln Gly Glu Cys Arg Ala Lys Phe Val Cys

355

360

365

His Leu Asp Cys Phe Ser Trp Val Lys Arg Asp Ser Tyr Leu Pro Gln

370

375

380

Gly Ser Gln Gly Leu Lys Ala Val Thr Lys Val Lys Leu Gly Tyr Asp

385

390

395

400

Pro Leu Glu Val Asn Pro Glu Asp Met Val Arg Phe Ala Met Glu Lys

405

410

415

Pro Gln Thr Met Ala Ser Tyr Ser Val Ser Asp Ala Val Ala Thr Tyr

420

425

430

Tyr Leu Tyr Met Thr Tyr Val His Pro Phe Val Phe Ser Leu Ala Thr

435

440

445

Ile Ile Pro Met Val Pro Asp Glu Val Leu Arg Lys Gly Ser Gly Thr

450

455

460

Leu Cys Glu Met Leu Leu Met Val Glu Ala Tyr Lys Ala Asn Val Val

465

470

475

480

Cys Pro Asn Lys Asn Gln Ala Asp Pro Glu Lys Phe Tyr Gln Gly Lys

485

490

495

Leu Leu Glu Ser Glu Thr Tyr Ile Gly Gly His Val Glu Cys Leu Gln

500

505

510

Ser Gly Val Phe Arg Ser Asp Ile Pro Thr Ser Phe Lys Leu Asp Ala  
515 520 525

Ser Ala Tyr Gln Gln Leu Ile Asp Asn Leu Gly Arg Asp Leu Glu Tyr  
530 535 540

Ala Ile Thr Val Glu Gly Lys Met Arg Met Asp Ser Val Ser Asn Phe  
545 550 555 560

Asp Glu Val Lys Glu Val Ile Arg Glu Lys Leu Glu Lys Leu Arg Asp  
565 570 575

Asp Pro Ile Arg Glu Glu Gly Pro Leu Ile Tyr His Leu Asp Val Ala  
580 585 590

Ala Met Tyr Pro Asn Ile Ile Leu Thr Asn Arg Leu Gln Pro Pro Ser  
595 600 605

Ile Val Thr Asp Glu Val Cys Thr Ala Cys Asp Phe Asn Gly Pro Glu  
610 615 620

Lys Thr Cys Leu Arg Lys Leu Glu Trp Val Trp Arg Gly Val Thr Phe  
625 630 635 640

Lys Gly Asn Lys Ser Glu Tyr Tyr His Leu Lys Lys Gln Ile Glu Ser  
645 650 655

Glu Ser Val Asp Ala Gly Ala Asn Met Gln Ser Ser Lys Pro Phe Leu  
660 665 670

Asp Leu Pro Lys Val Glu Gln Gln Ser Lys Leu Lys Glu Arg Leu Lys  
675 680 685

Lys Tyr Cys Gln Lys Ala Tyr Ser Arg Val Leu Asp Lys Pro Ile Thr  
690 695 700

Glu Val Arg Glu Ala Gly Ile Cys Met Arg Glu Asn Pro Phe Tyr Val  
705 710 715 720

Asp Thr Val Arg Ser Phe Arg Asp Arg Arg Tyr Glu Tyr Lys Thr Leu  
725 730 735

Asn Lys Val Trp Lys Gly Lys Leu Ser Glu Ala Lys Ala Ser Gly Asn  
740 745 750

Leu Ile Lys Ile Gln Glu Ala His Asp Met Val Val Val Tyr Asp Ser  
755 760 765

Leu Gln Leu Ala His Lys Cys Ile Leu Asn Ser Phe Tyr Gly Tyr Val  
770 775 780

Met Arg Lys Gly Ala Arg Trp Tyr Ser Met Glu Met Ala Gly Val Val  
785 790 795 800

Thr Tyr Thr Gly Ala Lys Ile Ile Gln Asn Ala Arg Leu Leu Ile Glu  
805 810 815

Arg Ile Gly Lys Pro Leu Glu Leu Asp Thr Asp Gly Ile Trp Cys Ala

820

825

830

Leu Pro Gly Ser Phe Pro Glu Asn Phe Thr Phe Lys Thr Ile Asp Met

835

840

845

Lys Lys Phe Thr Ile Ser Tyr Pro Cys Val Ile Leu Asn Val Asp Val

850

855

860

Ala Lys Asn Asn Ser Asn Asp Gln Tyr Gln Thr Leu Val Asp Pro Val

865

870

875

880

Arg Lys Thr Tyr Asn Ser Arg Ser Glu Cys Ser Ile Glu Phe Glu Val

885

890

895

Asp Gly Pro Tyr Lys Ala Met Ile Ile Pro Ala Ser Lys Glu Glu Gly

900

905

910

Ile Leu Ile Lys Lys Arg Tyr Ala Val Phe Asn His Asp Gly Thr Ile

915

920

925

Ala Glu Leu Lys Gly Phe Glu Met Lys Arg Arg Gly Glu Leu Lys Leu

930

935

940

Ile Lys Val Phe Gln Ala Glu Leu Phe Asp Lys Phe Leu His Gly Ser

945

950

955

960

Thr Leu Glu Glu Cys Tyr Ser Ala Val Ala Ala Val Ala Asn Arg Trp

965

970

975

Leu Asp Leu Leu Glu Gly Gln Gly Lys Asp Ile Ala Asp Ser Glu Leu  
 980 985 990

Leu Asp Tyr Ile Ser Glu Ser Ser Thr Met Ser Lys Ser Leu Ala Asp  
 995 1000 1005

Tyr Gly Gln Gln Lys Ser Cys Ala Val Thr Thr Ala Lys Arg Leu Ala  
 1010 1015 1020

Asp Phe Leu Gly Asp Thr Met Val Lys Asp Lys Gly Leu Arg Cys Gln  
 1025 1030 1035 1040

Tyr Ile Val Ala Arg Glu Pro Glu Gly Thr Pro Val Ser Glu Arg Ala  
 1045 1050 1055

Val Pro Val Ala Ile Phe Gln Thr Asp Asp Pro Glu Lys Lys Phe Tyr  
 1060 1065 1070

Leu Gln Lys Trp Cys Lys Ile Ser Ser Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Ile  
 1075 1080 1085

Ile Asp Trp Met Tyr Tyr Lys Gln Arg Leu His Ser Ala Ile Gln Lys  
 1090 1095 1100

Val Ile Thr Ile Pro Ala Ala Met Gln Lys Val Ala Asn Pro Val Leu  
 1105 1110 1115 1120

Arg Val Arg His Pro Tyr Trp Leu Glu Lys Lys Val Cys Asp Lys Phe  
 1125 1130 1135

Arg Gln Gly Lys Ile Val Asp Met Phe Ser Ser Ala Asn Lys Asp His  
1140 1145 1150

Ser Thr Thr Gln Asp Asn Val Val Ala Asp Ile Glu Glu Phe Cys Lys  
1155 1160 1165

Glu Asn Arg Pro Ser Val Lys Gly Pro Lys Pro Val Ala Arg Ser Phe  
1170 1175 1180

Glu Val Asp Arg Asn His Ser Glu Gly Lys Gln Gln Glu Ser Trp Asp  
1185 1190 1195 1200

Pro Glu Phe His Asp Ile Ser Leu Gln Asn Val Asp Lys Asn Val Asp  
1205 1210 1215

Tyr Gln Gly Trp Leu Glu Leu Glu Lys Arg Lys Trp Lys Met Thr Leu  
1220 1225 1230

Thr Asn Lys Lys Lys Arg Arg Phe Asp Asp Leu Lys Pro Cys Asn Gln  
1235 1240 1245

Ile Asp Ala His Lys Ile Asn Lys Lys Val Cys Lys Gly Arg Val Gly  
1250 1255 1260

Val Gly Ser Tyr Phe Arg Arg Pro Glu Glu Ala Leu Thr Ser Ser Tyr  
1265 1270 1275 1280

Leu Gln Ile Ile Gln Leu Val Gln Ser Pro Gln Ser Gly Gln Phe Phe



1285

1290

1295

Ala Trp Val Val Val Glu Gly Leu Met Leu Lys Ile Pro Leu Thr Ile

1300

1305

1310

Pro Arg Val Phe Tyr Ile Asn Ser Lys Ala Ser Ile Ala Gly Asn Phe

1315

1320

1325

Thr Gly Lys Cys Ile Asn Lys Ile Leu Pro His Gly Lys Pro Cys Tyr

1330

1335

1340

Asn Leu Met Glu Ala Arg His Leu His Asn Thr His Ile Leu Leu Leu

1345

1350

1355

1360

Val Asn Ile Gln Glu Asp Gln Phe Ile Lys Glu Ser Lys Lys Leu Ala

1365

1370

1375

Ala Leu Leu Ala Asp Pro Glu Ile Glu Gly Ile Tyr Glu Thr Lys Met

1380

1385

1390

Pro Leu Glu Phe Ser Ala Ile Cys Gln Ile Gly Cys Val Cys Lys Ile

1395

1400

1405

Glu Asp Thr Ala Lys His Arg Asn Thr Gln Asp Gly Trp Lys Leu Gly

1410

1415

1420

Glu Leu His Arg Ile Thr Thr Thr Glu Cys Arg Tyr Leu Glu Asn Ser

1425

1430

1435

1440

Ile Pro Leu Val Tyr Leu Tyr His Ser Thr Ser Thr Gly Arg Ala Val  
1445 1450 1455

Tyr Val Leu Tyr Cys His Ala Ser Lys Leu Met Ser Val Val Val Val  
1460 1465 1470

Asn Pro Tyr Gly Asp Lys Glu Leu Leu Ser Ser Ala Leu Glu Arg Gln  
1475 1480 1485

Phe Arg Asp Arg Cys Gln Glu Leu Ser Pro Glu Pro Phe Ser Trp Asp  
1490 1495 1500

Gly Ile Leu Phe Gln Val Glu Tyr Val Asp His Pro Glu Ala Ala Thr  
1505 1510 1515 1520

Lys Phe Leu Gln Lys Ala Leu Cys Glu Tyr Arg Glu Glu Asn Cys Gly  
1525 1530 1535

Ala Thr Val Ala Val Ile Glu Cys Pro Asp Phe Asn Thr Thr Lys Glu  
1540 1545 1550

Gly Val Lys Ala Leu Glu Asp Phe Pro Cys Val Arg Ile Pro Phe Asn  
1555 1560 1565

Asp Asp Asp Asn Ser Tyr Gln Pro Val Ser Trp Gln Arg Pro Ala Ala  
1570 1575 1580

Lys Ile Ala Val Leu Arg Cys Ala Ser Ala Ile Gln Trp Leu Asp Arg  
1585 1590 1595 1600

Arg Ile Ala Gln Ser Arg Tyr Ala His Val Pro Leu Gly Asn Phe Gly  
1605 1610 1615

Arg Asp Trp Leu Thr Phe Thr Val Asp Ile Phe Leu Ser Arg Ala Leu  
1620 1625 1630

Arg Asp Gln Gln Gln Val Leu Trp Val Ser Asp Asn Gly Val Pro Asp  
1635 1640 1645

Leu Gly Asp Ile Asn Asn Glu Glu Thr Phe Leu Ala Asp Glu Leu Gln  
1650 1655 1660

Glu Thr Ser Leu Leu Phe Pro Gly Ala Tyr Arg Lys Val Ser Val Glu  
1665 1670 1675 1680

Leu Lys Val His Arg Leu Ala Val Asn Ala Leu Leu Lys Ser Asp Leu  
1685 1690 1695

Val Ser Glu Met Glu Gly Gly Gly Phe Leu Gly Val Asn Ser Arg Gly  
1700 1705 1710

Ser Ser Leu Asn Asp Asn Gly Ser Phe Asp Glu Asn Asn Gly Cys Ala  
1715 1720 1725

Gln Ala Phe Arg Val Leu Lys Gln Leu Ile Lys Arg Leu Leu His Asp  
1730 1735 1740

Ala Cys Asn Ser Gly Asn Ile Tyr Ala Asp Ser Ile Leu Gln His Leu

1745	1750	1755	1760
Ser Trp Trp Leu Arg Ser Pro Ser Ser Lys Leu His Asp Pro Ala Leu			
1765	1770	1775	
His Leu Met Leu His Lys Val Met Gln Lys Val Phe Ala Leu Leu Leu			
1780	1785	1790	
Thr Asp Leu Arg Arg Leu Gly Ala Ile Ile Ile Tyr Ala Asp Phe Ser			
1795	1800	1805	
Lys Val Ile Ile Asp Thr Gly Lys Phe Asp Leu Ser Ala Ala Lys Thr			
1810	1815	1820	
Tyr Cys Glu Ser Leu Leu Thr Val Met Gly Ser Arg Asp Ile Phe Lys			
1825	1830	1835	1840
Leu Ile Leu Leu Glu Pro Val His Tyr Trp His Ser Leu Leu Phe Met			
1845	1850	1855	
Asp Gln His Asn Tyr Ala Gly Ile Arg Ala Thr Gly Asp Glu Ile Ser			
1860	1865	1870	
Gly Asn Glu Val Thr Ile Glu Pro Lys Trp Ser Val Ala Arg His Leu			
1875	1880	1885	
Pro Glu Tyr Ile Gln Lys Asp Phe Ile Ile Ile Val Ala Thr Phe Ile			
1890	1895	1900	

Phe Gly Pro Trp Lys Phe Ala Leu Glu Lys Lys Arg Gly Ser Ala Glu  
1905 1910 1915 1920

Ser Leu Glu Ala Glu Met Val Glu Tyr Leu Lys Glu Gln Ile Gly Thr  
1925 1930 1935

Arg Phe Ile Ser Met Ile Val Glu Lys Ile Gly Asn Ile Arg Ser His  
1940 1945 1950

Ile Lys Asp Ile Asn Val Ser Asp Ala Ser Trp Ala Ser Gly Gln Ala  
1955 1960 1965

Pro Lys Gly Asp Tyr Thr Phe Glu Phe Ile Gln Ile Ile Thr Ala Val  
1970 1975 1980

Leu Ala Leu Asp Gln Asn Val Gln Gln Asp Val Leu Val Met Arg Lys  
1985 1990 1995 2000

Ile Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Val Lys Glu Cys Ala Ala Glu Ala Glu  
2005 2010 2015

Phe Ile Asp Pro Gly Pro Ser Phe Ile Leu Pro Asn Val Ala Cys Ser  
2020 2025 2030

Asn Cys Gly Ala Tyr Arg Asp Leu Asp Phe Cys Arg Asp Ser Ala Leu  
2035 2040 2045

Leu Thr Glu Lys Glu Trp Ser Cys Ala Asp Pro Gln Cys Val Lys Ile  
2050 2055 2060

Tyr Asp Lys Glu Gln Ile Glu Ser Ser Ile Ile Gln Met Val Arg Gln  
2065                      2070                      2075                      2080

Arg Glu Arg Met Tyr Gln Leu Gln Asp Leu Val Cys Asn Arg Cys Asn  
                            2085                      2090                      2095

Gln Val Lys Ala Ala His Leu Thr Glu Gln Cys Glu Cys Ser Gly Ser  
                            2100                      2105                      2110

Phe Arg Cys Lys Glu Ser Gly Ser Asp Phe His Lys Arg Ile Glu Ile  
                            2115                      2120                      2125

Phe Leu Asp Ile Ala Lys Arg Gln Lys Phe Arg Leu Leu Glu Glu Cys  
                            2130                      2135                      2140

Ile Ser Trp Ile Leu Phe Ala Thr Ser Cys  
2145                      2150

<210> 47

<211> 3706

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<400> 47

ctctcttccc gcgttcccct ctccctcccc ctccccctc tccggcgatg agctcaggcg 60  
gacgcggcgg caagcggcga ggggcgccgc ccccgggggc atccggggcg gcggcgaagc 120  
gggcccaccc cgggtggcacc ccgcagccgc ctccgcccgc cgcgacggcg gcggcgcccc 180

tggcggagga ggaggacatg atggacgagg acgtcttcct cgacgagacc atcctggcgg 240  
aggacgagga ggcgttgctg ctgctcgacc gggacgaggc cctcgccctca cgcctctccc 300  
gctggaggcg ccccgcgctc cccgccgacc tagcgtccgg ctgctcgcg c aatgttgctt 360  
ttcagcagct ggagatagat tatgttattg gtgagagcca caaagtactg ctccccaact 420  
catctgggtcc tgcagctata ctcaggatat ttggcgtaac tagagaaggt cacagtgtat 480  
gctgccaaagt gcatggattt gagccatatt ttacatcag ttgtccaatg gggatgggcc 540  
ctgatgatat ttcacgcttc caccaaacac tagagggggag gatgaaggat tcaaatagga 600  
acagcaacgt gccaaaggtt gtgaagagaa tcgaacttgt gcagaagcag acaatcatgc 660  
attaccaacc acagcaatct cagcctttcc tcaagatagt ggttgctttg ccaacaatgg 720  
ttgctagtgtg tcgcggcatc ctggaaaggg gcataacaat tgaaggcctt ggttcgaaga 780  
gttttctgac atatgaaagc aacattcttt ttgcacttcg cttcatgatt gactgcaata 840  
ttgttggtgg taattggatt gaagttcctg ccggaaagta tatgaaggca gctcgatatca 900  
tgtcctattg tcagctagag ttggattgcc tatattcgga tttggtaagc catgctgctg 960  
aaggagaaca ttctaagatg gctccatttc gcatattaag ttttgatatt gaatgtgccg 1020  
gtcgcaaagg tcaacttcca gaaccaactc atgatccgt tattcagata gctaacttg 1080  
tcacccttca aggagaagga caacctttg tacgcaatgt tatgacgctt aatcatgtt 1140  
ctcccattgt tggagttgat gttatgtcat ttgacacaga gagggatgtt ctacttgctt 1200  
ggagggattt catacgtgaa gtggaccctg atattattat tggatacaat atctgcaa 1260  
ttgacttacc ctatcttatt gagagagctg aagttcttaa gatagtagag tttccaatac 1320  
ttggacgaat cagaaatagt cgtgttcgtg tccgtgacac aactttctct tcaaggcaat 1380  
atggtatgcg tgaaagtaaa gatgtagcag tggaaggaag agtacaattt gatcttctgc 1440  
aggctatgca acgggattac aagcttagtt cttattcatt aaactctgta tctgcacatt 1500  
tcctcgggga gcaaaaagag gatgttcac actcaattat atctgatctt caaaatggga 1560  
attcagagac acgaagacgg cttgcggttt attgtttgaa ggatgcctat cttccacaac 1620  
gactgctaga taagttgatg tatacttaca actatgtgga aatggcaaga gtcactggag 1680  
ttccatttc atttcttctt tcaaggggac agagcattaa ggtcctctca cagctactca 1740  
ggaaagcaaa acagaaaaac cttgttatac caaatataaa gggtaagcg tctggacagg 1800  
ataccttga aggtgcaact gttttggagg caagggtggt attttatgag aaaccattg 1860  
cgactttgga ctttgcttcg ttgtatccat ccatcatgat ggcatataac ctatgctact 1920

gtactttggt cccccctgag gatgcccga aactcaacct gcctccagaa agtgtcaaca 1980  
aaaccccatc tgggtgaaaca ttgtgaaac cagatgtgca aaagggtata cttcctgaaa 2040  
tccttgaaga attgttggct gctcggaaaa gggcgaaagc agatttgaag gaagcaaagg 2100  
atccatttga aagggccgtt ctgatggtc gtcagcttgc cctaaaaata agcgcaaact 2160  
ctgtctatgg ttttactgga gcgactgttg gtcaattacc ttgtttagaa atttcttcaa 2220  
gtgtgaccag ctatggtcga cagatgattg aacatacaaa aaagcttggt gaagataaat 2280  
tcacgacact tggaggctat gagcacaatg cagaggatcat ctatggagat actgattctg 2340  
taatggtaca gtccggtgtt tctactgttg aggacgcaat gaagctagga agagaagctg 2400  
cagactacat tagtgaaca tttattaagc ccatcaagct tgagtttgag aagatctatt 2460  
tcccttatct actgattagc aagaagagat atgctggttt gtactggaca aatcctgaga 2520  
aatttgacaa aatggacacg aaaggatttg aaacagtga aagggacaac tgtttattag 2580  
taaagaacct ggttactgag tgccttcata aaatactagt ggacagagat gtccctgggtg 2640  
cagttcaata tgtcaagaac accatttctg atctactaat gaaccgtgta gacttatctc 2700  
ttctagttat aacaaagggt ttgactaaaa caggagagga ttatgctgtc aaagctgccc 2760  
atgtggagct tgctgagaga atgcgaaaga gggacgctgc tactgctcct actgttggtg 2820  
accgggttcc ttatgttata atcaaagcag caaaaggggc aaaggcatat gagaggtcag 2880  
aagatcctat ttatgttttg gataataaca taccaataga tccccaatac taccttgaga 2940  
accaaatcag caaaccactt ttgaggatct ttgagccgat tctgaagaat gccagtagag 3000  
agctgcttca tggaagtcac accagggtcg tttcaatctc aactccttca aatagtggaa 3060  
taatgaaatt tgcaaagaaa caattgacat gcctcggatg caaagcagtt ataagtgggt 3120  
ccaatcaaac gctttgcttt cattgcaagg gaagagaagc agagttatac tgcaaaactg 3180  
taggaaacgt ttctgagctg gagatgctct ttgggaggct ctggacgcag tgccaggagt 3240  
gccaaggctc cttcatcag gacgttctct gcacaagccg ggattgtcct attttctacc 3300  
gccgaagaaa ggcgcagaag gatatggctg aagctagagt acagcttcaa cgttgggact 3360  
tctgagtcct ctactactga cggagtacta ctttcccaa atattgcgaa accattactg 3420  
tgaggcacgc cattgcggga tcatgtgatt gcatcttcat gcatgatggc tctggcttgt 3480  
ttagttggat cggctgaaat agctttgttc tacggtcagt ttgttgtatt ttaggtggt 3540  
aggttatctg tacctctagc cgctaacagg gtaatctagt tgcttccctt ggtgcattga 3600  
tgcagccatg tgtaaggtag ataaacaatt ttttttcatc atcttttaac ttcagagggt 3660



gattgaggct gagaagcacc cattcaagaa aaaaaaaaaa aaaaaa

3706

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 1105

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;400&gt; 48

Met Ser Ser Gly Gly Arg Gly Gly Lys Arg Arg Gly Ala Pro Pro Pro

1

5

10

15

Gly Pro Ser Gly Ala Ala Ala Lys Arg Ala His Pro Gly Gly Thr Pro

20

25

30

Gln Pro Pro Pro Pro Ala Ala Thr Ala Ala Ala Pro Val Ala Glu Glu

35

40

45

Glu Asp Met Met Asp Glu Asp Val Phe Leu Asp Glu Thr Ile Leu Ala

50

55

60

Glu Asp Glu Glu Ala Leu Leu Leu Leu Asp Arg Asp Glu Ala Leu Ala

65

70

75

80

Ser Arg Leu Ser Arg Trp Arg Arg Pro Ala Leu Pro Ala Asp Leu Ala

85

90

95

Ser Gly Cys Ser Arg Asn Val Ala Phe Gln Gln Leu Glu Ile Asp Tyr

100

105

110

Val Ile Gly Glu Ser His Lys Val Leu Leu Pro Asn Ser Ser Gly Pro  
115 120 125

Ala Ala Ile Leu Arg Ile Phe Gly Val Thr Arg Glu Gly His Ser Val  
130 135 140

Cys Cys Gln Val His Gly Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ile Ser Cys Pro  
145 150 155 160

Met Gly Met Gly Pro Asp Asp Ile Ser Arg Phe His Gln Thr Leu Glu  
165 170 175

Gly Arg Met Lys Asp Ser Asn Arg Asn Ser Asn Val Pro Arg Phe Val  
180 185 190

Lys Arg Ile Glu Leu Val Gln Lys Gln Thr Ile Met His Tyr Gln Pro  
195 200 205

Gln Gln Ser Gln Pro Phe Leu Lys Ile Val Val Ala Leu Pro Thr Met  
210 215 220

Val Ala Ser Cys Arg Gly Ile Leu Glu Arg Gly Ile Thr Ile Glu Gly  
225 230 235 240

Leu Gly Ser Lys Ser Phe Leu Thr Tyr Glu Ser Asn Ile Leu Phe Ala  
245 250 255

Leu Arg Phe Met Ile Asp Cys Asn Ile Val Gly Gly Asn Trp Ile Glu

260	265	270
Val Pro Ala Gly Lys Tyr Met Lys Ala Ala Arg Ile Met Ser Tyr Cys		
275	280	285
Gln Leu Glu Leu Asp Cys Leu Tyr Ser Asp Leu Val Ser His Ala Ala		
290	295	300
Glu Gly Glu His Ser Lys Met Ala Pro Phe Arg Ile Leu Ser Phe Asp		
305	310	315
		320
Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys Gly His Phe Pro Glu Pro Thr His Asp		
	325	330
		335
Pro Val Ile Gln Ile Ala Asn Leu Val Thr Leu Gln Gly Glu Gly Gln		
	340	345
		350
Pro Phe Val Arg Asn Val Met Thr Leu Lys Ser Cys Ser Pro Ile Val		
	355	360
		365
Gly Val Asp Val Met Ser Phe Asp Thr Glu Arg Asp Val Leu Leu Ala		
	370	375
		380
Trp Arg Asp Phe Ile Arg Glu Val Asp Pro Asp Ile Ile Ile Gly Tyr		
	385	390
		395
		400
Asn Ile Cys Lys Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Ile Glu Arg Ala Glu Val		
	405	410
		415

Leu Lys Ile Val Glu Phe Pro Ile Leu Gly Arg Ile Arg Asn Ser Arg  
420 425 430

Val Arg Val Arg Asp Thr Thr Phe Ser Ser Arg Gln Tyr Gly Met Arg  
435 440 445

Glu Ser Lys Asp Val Ala Val Glu Gly Arg Val Gln Phe Asp Leu Leu  
450 455 460

Gln Ala Met Gln Arg Asp Tyr Lys Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asn Ser  
465 470 475 480

Val Ser Ala His Phe Leu Gly Glu Gln Lys Glu Asp Val His His Ser  
485 490 495

Ile Ile Ser Asp Leu Gln Asn Gly Asn Ser Glu Thr Arg Arg Arg Leu  
500 505 510

Ala Val Tyr Cys Leu Lys Asp Ala Tyr Leu Pro Gln Arg Leu Leu Asp  
515 520 525

Lys Leu Met Tyr Ile Tyr Asn Tyr Val Glu Met Ala Arg Val Thr Gly  
530 535 540

Val Pro Ile Ser Phe Leu Leu Ser Arg Gly Gln Ser Ile Lys Val Leu  
545 550 555 560

Ser Gln Leu Leu Arg Lys Ala Lys Gln Lys Asn Leu Val Ile Pro Asn  
565 570 575

Ile Lys Gly Gln Ala Ser Gly Gln Asp Thr Phe Glu Gly Ala Thr Val  
580 585 590

Leu Glu Ala Arg Ala Gly Phe Tyr Glu Lys Pro Ile Ala Thr Leu Asp  
595 600 605

Phe Ala Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Met Met Ala Tyr Asn Leu Cys Tyr  
610 615 620

Cys Thr Leu Val Pro Pro Glu Asp Ala Arg Lys Leu Asn Leu Pro Pro  
625 630 635 640

Glu Ser Val Asn Lys Thr Pro Ser Gly Glu Thr Phe Val Lys Pro Asp  
645 650 655

Val Gln Lys Gly Ile Leu Pro Glu Ile Leu Glu Glu Leu Leu Ala Ala  
660 665 670

Arg Lys Arg Ala Lys Ala Asp Leu Lys Glu Ala Lys Asp Pro Phe Glu  
675 680 685

Arg Ala Val Leu Asp Gly Arg Gln Leu Ala Leu Lys Ile Ser Ala Asn  
690 695 700

Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Thr Val Gly Gln Leu Pro Cys Leu  
705 710 715 720

Glu Ile Ser Ser Ser Val Thr Ser Tyr Gly Arg Gln Met Ile Glu His

725

730

735

Thr Lys Lys Leu Val Glu Asp Lys Phe Thr Thr Leu Gly Gly Tyr Glu

740

745

750

His Asn Ala Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Ser Val Met Val Gln

755

760

765

Phe Gly Val Ser Thr Val Glu Asp Ala Met Lys Leu Gly Arg Glu Ala

770

775

780

Ala Asp Tyr Ile Ser Gly Thr Phe Ile Lys Pro Ile Lys Leu Glu Phe

785

790

795

800

Glu Lys Ile Tyr Phe Pro Tyr Leu Leu Ile Ser Lys Lys Arg Tyr Ala

805

810

815

Gly Leu Tyr Trp Thr Asn Pro Glu Lys Phe Asp Lys Met Asp Thr Lys

820

825

830

Gly Ile Glu Thr Val Arg Arg Asp Asn Cys Leu Leu Val Lys Asn Leu

835

840

845

Val Thr Glu Cys Leu His Lys Ile Leu Val Asp Arg Asp Val Pro Gly

850

855

860

Ala Val Gln Tyr Val Lys Asn Thr Ile Ser Asp Leu Leu Met Asn Arg

865

870

875

880

Val Asp Leu Ser Leu Leu Val Ile Thr Lys Gly Leu Thr Lys Thr Gly  
885 890 895

Glu Asp Tyr Ala Val Lys Ala Ala His Val Glu Leu Ala Glu Arg Met  
900 905 910

Arg Lys Arg Asp Ala Ala Thr Ala Pro Thr Val Gly Asp Arg Val Pro  
915 920 925

Tyr Val Ile Ile Lys Ala Ala Lys Gly Ala Lys Ala Tyr Glu Arg Ser  
930 935 940

Glu Asp Pro Ile Tyr Val Leu Asp Asn Asn Ile Pro Ile Asp Pro Gln  
945 950 955 960

Tyr Tyr Leu Glu Asn Gln Ile Ser Lys Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu  
965 970 975

Pro Ile Leu Lys Asn Ala Ser Arg Glu Leu Leu His Gly Ser His Thr  
980 985 990

Arg Ala Val Ser Ile Ser Thr Pro Ser Asn Ser Gly Ile Met Lys Phe  
995 1000 1005

Ala Lys Lys Gln Leu Thr Cys Leu Gly Cys Lys Ala Val Ile Ser Gly  
1010 1015 1020

Ser Asn Gln Thr Leu Cys Phe His Cys Lys Gly Arg Glu Ala Glu Leu  
1025 1030 1035 1040

Tyr Cys Lys Thr Val Gly Asn Val Ser Glu Leu Glu Met Leu Phe Gly  
1045 1050 1055

Arg Leu Trp Thr Gln Cys Gln Glu Cys Gln Gly Ser Leu His Gln Asp  
1060 1065 1070

Val Leu Cys Thr Ser Arg Asp Cys Pro Ile Phe Tyr Arg Arg Arg Lys  
1075 1080 1085

Ala Gln Lys Asp Met Ala Glu Ala Arg Val Gln Leu Gln Arg Trp Asp  
1090 1095 1100

Phe  
1105

<210> 49

<211> 3427

<212> DNA

<213> Glycine max

<400> 49

tgattaccct ccactccac actctccgct gtctctccct cccaattccg atgagcaaca 60  
acgcctcccg gaagcgcgcg cgcgcgctc cgtcccaacc tccgccggcg aacaagccct 120  
aatgactcag gaagaagagt tcatggacga agacgtgttc ataaacgaaa ccctcgtctc 180  
cgaggacgaa gaatccctca ttctccgca cattgagcag cgccaggccc tcgccaaccg 240  
cctctccaag tggacacgtc ctctctctc cgccgggtac gtcgcccaat ctcgtagcgt 300  
cctttttcag cagctagaga ttgattacgt gattgcagag agtcacgggg agttgctgcc 360



gaactcgtct ggacctgtcg ccattatcag aatatttggga gttactaagg aaggacacag 420  
tgtttgttgc aatgttcatg ggtttgaacc atatttctac atctgttgcc ctcttggaat 480  
gggtccagat gatatctccc attttcatca aactctcgag ggaaggatga gagaagccaa 540  
tagaaacagt aatgtgggaa aattcgttcg cegtattgaa atgggtgcaga gaaggagtat 600  
tatgtactat cagcaatcca attcccaacc ctttctcaaa attgtagttg cactcccaac 660  
aatggttgcc agctgccgtg gtattcttga taggggtatt caacttgatg gtctgggaat 720  
gaagagcttc ttgacttatg aaagcaatgt actttttgcc cttcgcttca tgattgattg 780  
taacatagtt ggtggaaatt ggattgggat tcctgccgga aaatataaga aaacagcgaa 840  
aagcttgtct tactgccagt tagagtttga ttgcttgtat tctgaattga ttagtcatgc 900  
tccagaaggg gaatattcaa agatggctcc gtttcgcatt ttgagttttg acatcgagtg 960  
tgctggtcgt aaaggtcatt ttcctgagcc taccatgat cctgttatcc agattgctaa 1020  
tttggttact ttacaaggag aagaccagcc atttattcgt aatgtgatga cccttaaate 1080  
atgttctcct atcgttgggtg ttgatgtgat gccatttgaa acagaaagag aagtcctgct 1140  
ggcttggagg gatittattc gtgaagtgga ccctgatatt attattggat acaacatttg 1200  
caaatttgac ttgcatatc ttattgagag agctttgaac ctgaagatag cagaatttcc 1260  
aattctgggt cgtatcagga acagtagagt tcgagtaaag gatacaactt tctcatcaag 1320  
gcagtacgga accagggaaa gttaaagaagt tgcagtagaa gggagagtta cgtttgattt 1380  
actccagggt atgcaaagag actacaaatt aagttcttat tctactgaatt ctgtgtcatc 1440  
acatttcctt tctgagcaga aagaggatgt tcatcattca attatatccg atcttcagaa 1500  
tggaaatgca gaaactagga ggcgccttgc tgtgtattgt ttgaaggatg catatctccc 1560  
tcagcggctt ttggataaat tgatgttcat ttacaattat gtggagatgg ctcgagtaac 1620  
aggtgtccca atttcttttc tactttccag aggccaaagc attaaggtac tttctcaact 1680  
tcttaggagg gcaaggcaga agaactctggc cattcctaatt gccaaacagg ctgggtctga 1740  
acaaggaaca tttgaagggtg ccactgtatt ggaggcaagg gctggatttt atgaaaaacc 1800  
aattgctact ttagattttg catccttgta tccatctatt atgatggcct ataacttatg 1860  
ttattgcact ctgggtgatcc ctgaagatgc tcgcaagctc aacatacctc cagagtctgt 1920  
gaacagaact ccatctgggtg aaacatttgt taaatcaaatt ttgcagaagg gaatacttcc 1980  
tgaaatactt gaagagctat taacagcccg taaaagggca aaagcagact taaaggaggc 2040  
caaggatccc ctggagaagg cagtgtctaga tggtagacag ctagccctga agattagtgc 2100

caattctgtg tatgggttta caggggctac cattggtcag ttacatggt tagagatatc 2160  
atcgagtgt acaagctatg gtcgacaaat gatcgagcac acgaaaaaac ttgtggaaga 2220  
taaatttacg acacttaatg gctatgaaca caatgccgag gtaatatatg gagacacaga 2280  
ttcagtcatg gtacaatttg gtgtttctgc tgtagaagag gctatgaact tggggagaga 2340  
agctgctgaa catattagt gaactttcac aaaacccatc aaactagaat ttgagaaggt 2400  
ttactatcca tatctcctga ttagcaagaa gagatatgct ggtttgttt ggacaaaacc 2460  
agacaacttt gacaaaatgg acactaaagg tattgaaaca gttcgaagag acaattgttt 2520  
attgggtcaa aacctgggtga acgattgcct tcacaaaata ttgattgaca gggacattcc 2580  
tggggcagtc cagtatgtca agaatgcaat ttcagatctt ctcatgaatc gtatggactt 2640  
atcacttctg gttattacaa agggtttaac gaagacagga gatgattacg aagtaaaggc 2700  
agctcatggt gaacttgctg aaaggatgcg caagcgagat gctgccactg ctccaaatgt 2760  
tggagacaga gtacatatg ttattattaa agctgcaaaa ggtgcaaagg catatgagag 2820  
atcagaggat cctatctatg tgctagagaa caacataccc atagatcctc attactatct 2880  
tgagaatcaa attagcaagc caattctgag aatttttgag ccaattctga agaatgctag 2940  
caaagagctt ctccatggaa gtcatacaag atctatttct atttctacac cgtcaaacag 3000  
tggcatattg agatttgcta agaaacagct acctgcattg gttgtaaagc tttacttggc 3060  
aagggttata acactctctg ttcacattgc aaaggaaggg aggctgagct gtactgtaaa 3120  
acagtatctc aagtgtctga gctggagatg ctttttggga ggttgtggac acagtgtcag 3180  
gagtgccaaag gttcattca tcaggatggt ctctgcacca gtcgggattg tccaattttc 3240  
tatcgacgaa aaaaggcaca gaaagatatg ggtgaagcaa agttgcaatt ggacagatgg 3300  
aacttctaag ttttgccaag aatttgacct tgcggatctc ttcgaaccaa tggacacaaa 3360  
tacaatctgg tgtttgccac aatcctgaca tttgtaatgt gagtaaaagc ccacaatttg 3420  
tttactg 3427

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 1088

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Glycine max

&lt;400&gt; 50

Met Thr Gln Glu Glu Glu Phe Met Asp Glu Asp Val Phe Ile Asn Glu

1 5 10 15

Thr Leu Val Ser Glu Asp Glu Glu Ser Leu Ile Leu Arg Asp Ile Glu

20 25 30

Gln Arg Gln Ala Leu Ala Asn Arg Leu Ser Lys Trp Thr Arg Pro Pro

35 40 45

Leu Ser Ala Gly Tyr Val Ala Gln Ser Arg Ser Val Leu Phe Gln Gln

50 55 60

Leu Glu Ile Asp Tyr Val Ile Ala Glu Ser His Gly Glu Leu Leu Pro

65 70 75 80

Asn Ser Ser Gly Pro Val Ala Ile Ile Arg Ile Phe Gly Val Thr Lys

85 90 95

Glu Gly His Ser Val Cys Cys Asn Val His Gly Phe Glu Pro Tyr Phe

100 105 110

Tyr Ile Cys Cys Pro Pro Gly Met Gly Pro Asp Asp Ile Ser His Phe

115 120 125

His Gln Thr Leu Glu Gly Arg Met Arg Glu Ala Asn Arg Asn Ser Asn

130 135 140

Val Gly Lys Phe Val Arg Arg Ile Glu Met Val Gln Arg Arg Ser Ile  
145 150 155 160

Met Tyr Tyr Gln Gln Ser Asn Ser Gln Pro Phe Leu Lys Ile Val Val  
165 170 175

Ala Leu Pro Thr Met Val Ala Ser Cys Arg Gly Ile Leu Asp Arg Gly  
180 185 190

Ile Gln Leu Asp Gly Leu Gly Met Lys Ser Phe Leu Thr Tyr Glu Ser  
195 200 205

Asn Val Leu Phe Ala Leu Arg Phe Met Ile Asp Cys Asn Ile Val Gly  
210 215 220

Gly Asn Trp Ile Gly Ile Pro Ala Gly Lys Tyr Lys Lys Thr Ala Lys  
225 230 235 240

Ser Leu Ser Tyr Cys Gln Leu Glu Phe Asp Cys Leu Tyr Ser Glu Leu  
245 250 255

Ile Ser His Ala Pro Glu Gly Glu Tyr Ser Lys Met Ala Pro Phe Arg  
260 265 270

Ile Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys Gly His Phe Pro  
275 280 285

Glu Pro Thr His Asp Pro Val Ile Gln Ile Ala Asn Leu Val Thr Leu  
290 295 300

Gln Gly Glu Asp Gln Pro Phe Ile Arg Asn Val Met Thr Leu Lys Ser  
305 310 315 320

Cys Ser Pro Ile Val Gly Val Asp Val Met Pro Phe Glu Thr Glu Arg  
325 330 335

Glu Val Leu Leu Ala Trp Arg Asp Phe Ile Arg Glu Val Asp Pro Asp  
340 345 350

Ile Ile Ile Gly Tyr Asn Ile Cys Lys Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Ile  
355 360 365

Glu Arg Ala Leu Asn Leu Lys Ile Ala Glu Phe Pro Ile Leu Gly Arg  
370 375 380

Ile Arg Asn Ser Arg Val Arg Val Lys Asp Thr Thr Phe Ser Ser Arg  
385 390 395 400

Gln Tyr Gly Thr Arg Glu Ser Lys Glu Val Ala Val Glu Gly Arg Val  
405 410 415

Thr Phe Asp Leu Leu Gln Val Met Gln Arg Asp Tyr Lys Leu Ser Ser  
420 425 430

Tyr Ser Leu Asn Ser Val Ser Ser His Phe Leu Ser Glu Gln Lys Glu  
435 440 445

Asp Val His His Ser Ile Ile Ser Asp Leu Gln Asn Gly Asn Ala Glu

450

455

460

Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys Leu Lys Asp Ala Tyr Leu Pro

465

470

475

480

Gln Arg Leu Leu Asp Lys Leu Met Phe Ile Tyr Asn Tyr Val Glu Met

485

490

495

Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Ile Ser Phe Leu Leu Ser Arg Gly Gln

500

505

510

Ser Ile Lys Val Leu Ser Gln Leu Leu Arg Arg Ala Arg Gln Lys Asn

515

520

525

Leu Val Ile Pro Asn Ala Lys Gln Ala Gly Ser Glu Gln Gly Thr Phe

530

535

540

Glu Gly Ala Thr Val Leu Glu Ala Arg Ala Gly Phe Tyr Glu Lys Pro

545

550

555

560

Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ala Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Met Met Ala

565

570

575

Tyr Asn Leu Cys Tyr Cys Thr Leu Val Ile Pro Glu Asp Ala Arg Lys

580

585

590

Leu Asn Ile Pro Pro Glu Ser Val Asn Arg Thr Pro Ser Gly Glu Thr

595

600

605

Phe Val Lys Ser Asn Leu Gln Lys Gly Ile Leu Pro Glu Ile Leu Glu  
610 615 620

Glu Leu Leu Thr Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala Asp Leu Lys Glu Ala  
625 630 635 640

Lys Asp Pro Leu Glu Lys Ala Val Leu Asp Gly Arg Gln Leu Ala Leu  
645 650 655

Lys Ile Ser Ala Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Thr Ile Gly  
660 665 670

Gln Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Ser Ser Val Thr Ser Tyr Gly Arg  
675 680 685

Gln Met Ile Glu His Thr Lys Lys Leu Val Glu Asp Lys Phe Thr Thr  
690 695 700

Leu Asn Gly Tyr Glu His Asn Ala Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp  
705 710 715 720

Ser Val Met Val Gln Phe Gly Val Ser Ala Val Glu Glu Ala Met Asn  
725 730 735

Leu Gly Arg Glu Ala Ala Glu His Ile Ser Gly Thr Phe Thr Lys Pro  
740 745 750

Ile Lys Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Tyr Pro Tyr Leu Leu Ile Ser  
755 760 765

Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Phe Trp Thr Lys Pro Asp Asn Phe Asp  
770 775 780

Lys Met Asp Thr Lys Gly Ile Glu Thr Val Arg Arg Asp Asn Cys Leu  
785 790 795 800

Leu Val Lys Asn Leu Val Asn Asp Cys Leu His Lys Ile Leu Ile Asp  
805 810 815

Arg Asp Ile Pro Gly Ala Val Gln Tyr Val Lys Asn Ala Ile Ser Asp  
820 825 830

Leu Leu Met Asn Arg Met Asp Leu Ser Leu Leu Val Ile Thr Lys Gly  
835 840 845

Leu Thr Lys Thr Gly Asp Asp Tyr Glu Val Lys Ala Ala His Val Glu  
850 855 860

Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Ala Ala Thr Ala Pro Asn Val  
865 870 875 880

Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Lys Ala Ala Lys Gly Ala Lys  
885 890 895

Ala Tyr Glu Arg Ser Glu Asp Pro Ile Tyr Val Leu Glu Asn Asn Ile  
900 905 910

Pro Ile Asp Pro His Tyr Tyr Leu Glu Asn Gln Ile Ser Lys Pro Ile



915

920

925

Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu Lys Asn Ala Ser Lys Glu Leu Leu

930

935

940

His Gly Ser His Thr Arg Ser Ile Ser Ile Ser Thr Pro Ser Asn Ser

945

950

955

960

Gly Ile Leu Arg Phe Ala Lys Lys Gln Leu Pro Ala Leu Val Val Lys

965

970

975

Leu Tyr Leu Ala Arg Val Ile Thr Leu Ser Val His Ile Ala Lys Glu

980

985

990

Gly Arg Leu Ser Cys Thr Val Lys Gln Tyr Leu Lys Cys Leu Ser Trp

995

1000

1005

Arg Cys Phe Leu Gly Gly Cys Gly His Ser Val Arg Ser Ala Lys Val

1010

1015

1020

His Phe Ile Arg Met Phe Ser Ala Pro Val Gly Ile Val Gln Phe Ser

1025

1030

1035

1040

Ile Asp Glu Lys Arg His Arg Lys Ile Trp Val Lys Gln Ser Cys Asn

1045

1050

1055

Trp Thr Asp Gly Thr Ser Lys Phe Cys Gln Glu Phe Asp Leu Ala Asp

1060

1065

1070

Leu Phe Glu Pro Met Asp Thr Asn Thr Ile Trp Cys Leu Pro Gln Ser  
1075 1080 1085

<210> 51

<211> 3435

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

acggcggcgt aggctgtggc gggaaacgct gtttgaagcg ggatggatgg caagcggcgg 60  
ccaggcccag ggcccggggt gccccaaag cgggcccgtg ggggcctctg ggatgatgat 120  
gatgcacctc ggccatccca attcgaggag gacctggcac tgatggagga gatggaggca 180  
gaacacaggc tgcaggagca ggaggaggag gagctgcagt cagtcctgga gggggttgca 240  
gacgggcagg tcccaccatc agccatagat cctcgctggc ttcggccac accaccagcg 300  
ctggaccccc agacagagcc cctcatcttc caacagttag agattgacca ttatgtgggc 360  
ccagcgcagc ctgtgcctgg ggggccccca ccatcccacg gctccgtgcc tgtgctccgc 420  
gccttcgggg tcaccgatga ggggttctct gtctgtgcc acatccacgg cttcgctccc 480  
tacttctaca cccagcgcc ccctggtttc gggcccgagc acatgggtga cctgcaacgg 540  
gagctgaact tggccatcaa cgggacagt cgcgggggga gggagctgac tgggccggcc 600  
gtgctggctg tggaactgtg ctcccagag agcatgtttg ggtaccacgg gcacggcccc 660  
tccccgttcc tgcgcatcac cgtggcgctg ccgcgcctcg tggccccggc ccgccgtctc 720  
ctggaacagg gcatccgtgt ggcaggcctg ggcacgcca gcttcgcgcc ctacgaggcc 780  
aacgtcgact ttgagatccg gttcatggtg gacacggaca tcgtcggctg caactggctg 840  
gagctcccag ccgggaaata cgccctgagg ctgaaggaga aggctacgca gtgccagctg 900  
gaggcggacg tgctgtggtc tgacgtggtc agtcaccac cggaagggcc atggcagcgc 960

attgcgccct tgcgcgtgct cagcttcgat atcgagtgcg ccggccgcaa aggcattctc 1020  
cctgagcctg agcgggaccc tgtcatccag atctgctcgc tgggcctgcg ctggggggag 1080  
ccggagccct tcctacgcct ggcgctcacc ctgcggccct gtgcccccat cctgggtgcc 1140  
aaggtgcaga gctacgagaa ggaggaggac ctgctgcagg cctgggtccac cticattcgt 1200  
atcatggacc ccgatgtgat caccggttac aacatccaga acttcgacct tccgtacctc 1260  
atctctcggg ccagaccct caaggtacaa acattccctt tcctgggccg tgtggccggc 1320  
ctttgctcca acatccggga ctcttcattc cagtccaagc agacgggccg gcgggacacc 1380  
aaggttgtca gcatggtggg ccgcgtgcag atggacatgc tgcaggtgct gctgcgggag 1440  
tacaagctcc gtcctacac gctcaatgcc gtgagcttcc acttcctggg cgagcagaag 1500  
gaggacgtgc agcacagcat catcaccgac ctgcagaatg ggaacgacca gacccgccgc 1560  
cgcctggctg tgtactgcct aaaggatgct tacctgccac tgcggctgct ggagcggctc 1620  
atggtgctgg tgaacgccgt ggagatggcg agggctactg gcgtgcccct cagctacctg 1680  
ctcagtcgtg gccagcaggt caaggtcgta tcccagctgt tgcggcaggc catgcacgag 1740  
gggctgctga tgcccgtggt gaagtcagag ggcggcgagg actacacggg agccactgtc 1800  
attgagcccc tcaaagggtg ctacgacgtc cccatcgcca ccctggactt ctcctcgctg 1860  
taccgtcca tcatgatggc ccacaacctg tgttacacca cactccttcg gcccgggact 1920  
gcacagaaac tgggcctgac tgaggatcag ttcatcagga cccccaccgg ggacgagttt 1980  
gtgaagacct cagtgcgtaa ggggctgctg cccagatcc tggagaacct gctcagtgcc 2040  
cggaagaggg ccaaggccga gctggccaag gagacagacc ccctccggcg ccaggtcctg 2100  
gatggacggc agctggcgct gaaggtgagc gccaaactccg tatacggctt cactggcgcc 2160  
caggtgggca agttgccgtg cctggagatc tcacagagcg tcacggggtt cggacgtcag 2220  
atgatcgaga aaaccaagca gctggtggag tctaagtaca cagtggagaa tggctacagc 2280  
accagcgcca aggtggtgta tgggtgacact gactccgtca tgtgccgatt cggcgtgtcc 2340  
tcggtggctg aggcgatggc cctgggcggg gaggccgcgg actgggtgtc aggtcacttc 2400  
ccgtcgccca tccggctgga gtttgagaag gtctacttcc catacctgct tatcagcaag 2460  
aagcgctacg cgggcctgct cttctcctcc cggcccgcg cccacgaccg catggactgc 2520  
aagggcctgg aggcggtgcg cagggacaac tgccccctcg tggccaacct ggctactgcc 2580  
tactgcgcc gcctgctcat cgaccgagac cctgagggcg cgggtggctca cgcacaggac 2640  
gtcatctcgg acctgctgtg caaccgcac gatctctccc agctgggtcat caccaaggag 2700

ctgacccgcg cggcctccga ctatgccggc aagcaggccc acgtggagct ggccgagagg 2760  
 atgaggaagc gggaccccgg gagtgcgccc agcctgggcg accgcgtccc ctacgtgac 2820  
 atcagtgccg ccaagggtgt ggccgcctac atgaagtcgg aggacccgct gttcgtgctg 2880  
 gagcacagcc tgcccattga cacgcagtac tacctggagc agcagctggc caagcccctc 2940  
 ctgcgcatct tcgagcccat cctgggcgag ggccgtgccg aggctgtgct actgcggggg 3000  
 gaccacacgc gctgcaagac ggtgctcacg ggcaagggtg gcggcctcct ggccttcgcc 3060  
 aaacgccga actgctgcat tggctgccgc acagtgtca gccaccaggg agccgtgtgt 3120  
 gagttctgcc agccccggga gtctgagctg tatcagaagg aggtatcca tctgaatgcc 3180  
 ctggaggagc gcttctcgcg cctctggacg cagtgccagc gctgccaggg cagcctgcac 3240  
 gaggacgtca tctgcaccag ccgggactgc cccatcttct acatgcgcaa gaaggtgcgg 3300  
 aaggacctgg aagaccagga gcagctcctg cggcgcttcg gaccccctgg acctgaggcc 3360  
 tggtgacctt gcaagcatcc catggggcgg gggcgggacc agggagaatt aataaagttc 3420  
 tggacttttg ctaca 3435

<210> 52

<211> 1107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Met Asp Gly Lys Arg Arg Pro Gly Pro Gly Pro Gly Val Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Arg Ala Arg Gly Gly Leu Trp Asp Asp Asp Ala Pro Arg Pro Ser  
 20 25 30

Gln Phe Glu Glu Asp Leu Ala Leu Met Glu Glu Met Glu Ala Glu His  
 35 40 45

Arg Leu Gln Glu Gln Glu Glu Glu Glu Leu Gln Ser Val Leu Glu Gly  
50 55 60

Val Ala Asp Gly Gln Val Pro Pro Ser Ala Ile Asp Pro Arg Trp Leu  
65 70 75 80

Arg Pro Thr Pro Pro Ala Leu Asp Pro Gln Thr Glu Pro Leu Ile Phe  
85 90 95

Gln Gln Leu Glu Ile Asp His Tyr Val Gly Pro Ala Gln Pro Val Pro  
100 105 110

Gly Gly Pro Pro Pro Ser His Gly Ser Val Pro Val Leu Arg Ala Phe  
115 120 125

Gly Val Thr Asp Glu Gly Phe Ser Val Cys Cys His Ile His Gly Phe  
130 135 140

Ala Pro Tyr Phe Tyr Thr Pro Ala Pro Pro Gly Phe Gly Pro Glu His  
145 150 155 160

Met Gly Asp Leu Gln Arg Glu Leu Asn Leu Ala Ile Asn Arg Asp Ser  
165 170 175

Arg Gly Gly Arg Glu Leu Thr Gly Pro Ala Val Leu Ala Val Glu Leu  
180 185 190

Cys Ser Arg Glu Ser Met Phe Gly Tyr His Gly His Gly Pro Ser Pro

195	200	205
Phe Leu Arg Ile Thr Val Ala Leu Pro Arg Leu Val Ala Pro Ala Arg		
210	215	220
Arg Leu Leu Glu Gln Gly Ile Arg Val Ala Gly Leu Gly Thr Pro Ser		
225	230	235 240
Phe Ala Pro Tyr Glu Ala Asn Val Asp Phe Glu Ile Arg Phe Met Val		
245	250	255
Asp Thr Asp Ile Val Gly Cys Asn Trp Leu Glu Leu Pro Ala Gly Lys		
260	265	270
Tyr Ala Leu Arg Leu Lys Glu Lys Ala Thr Gln Cys Gln Leu Glu Ala		
275	280	285
Asp Val Leu Trp Ser Asp Val Val Ser His Pro Pro Glu Gly Pro Trp		
290	295	300
Gln Arg Ile Ala Pro Leu Arg Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala		
305	310	315 320
Gly Arg Lys Gly Ile Phe Pro Glu Pro Glu Arg Asp Pro Val Ile Gln		
325	330	335
Ile Cys Ser Leu Gly Leu Arg Trp Gly Glu Pro Glu Pro Phe Leu Arg		
340	345	350

Leu Ala Leu Thr Leu Arg Pro Cys Ala Pro Ile Leu Gly Ala Lys Val  
355 360 365

Gln Ser Tyr Glu Lys Glu Glu Asp Leu Leu Gln Ala Trp Ser Thr Phe  
370 375 380

Ile Arg Ile Met Asp Pro Asp Val Ile Thr Gly Tyr Asn Ile Gln Asn  
385 390 395 400

Phe Asp Leu Pro Tyr Leu Ile Ser Arg Ala Gln Thr Leu Lys Val Gln  
405 410 415

Thr Phe Pro Phe Leu Gly Arg Val Ala Gly Leu Cys Ser Asn Ile Arg  
420 425 430

Asp Ser Ser Phe Gln Ser Lys Gln Thr Gly Arg Arg Asp Thr Lys Val  
435 440 445

Val Ser Met Val Gly Arg Val Gln Met Asp Met Leu Gln Val Leu Leu  
450 455 460

Arg Glu Tyr Lys Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn Ala Val Ser Phe His  
465 470 475 480

Phe Leu Gly Glu Gln Lys Glu Asp Val Gln His Ser Ile Ile Thr Asp  
485 490 495

Leu Gln Asn Gly Asn Asp Gln Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys  
500 505 510

Leu Lys Asp Ala Tyr Leu Pro Leu Arg Leu Leu Glu Arg Leu Met Val  
515 520 525

Leu Val Asn Ala Val Glu Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Leu Ser  
530 535 540

Tyr Leu Leu Ser Arg Gly Gln Gln Val Lys Val Val Ser Gln Leu Leu  
545 550 555 560

Arg Gln Ala Met His Glu Gly Leu Leu Met Pro Val Val Lys Ser Glu  
565 570 575

Gly Gly Glu Asp Tyr Thr Gly Ala Thr Val Ile Glu Pro Leu Lys Gly  
580 585 590

Tyr Tyr Asp Val Pro Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ser Ser Leu Tyr Pro  
595 600 605

Ser Ile Met Met Ala His Asn Leu Cys Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Pro  
610 615 620

Gly Thr Ala Gln Lys Leu Gly Leu Thr Glu Asp Gln Phe Ile Arg Thr  
625 630 635 640

Pro Thr Gly Asp Glu Phe Val Lys Thr Ser Val Arg Lys Gly Leu Leu  
645 650 655

Pro Gln Ile Leu Glu Asn Leu Leu Ser Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala



660

665

670

Glu Leu Ala Lys Glu Thr Asp Pro Leu Arg Arg Gln Val Leu Asp Gly

675

680

685

Arg Gln Leu Ala Leu Lys Val Ser Ala Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr

690

695

700

Gly Ala Gln Val Gly Lys Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Gln Ser Val

705

710

715

720

Thr Gly Phe Gly Arg Gln Met Ile Glu Lys Thr Lys Gln Leu Val Glu

725

730

735

Ser Lys Tyr Thr Val Glu Asn Gly Tyr Ser Thr Ser Ala Lys Val Val

740

745

750

Tyr Gly Asp Thr Asp Ser Val Met Cys Arg Phe Gly Val Ser Ser Val

755

760

765

Ala Glu Ala Met Ala Leu Gly Gly Glu Ala Ala Asp Trp Val Ser Gly

770

775

780

His Phe Pro Ser Pro Ile Arg Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Phe Pro

785

790

795

800

Tyr Leu Leu Ile Ser Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Phe Ser Ser

805

810

815

Arg Pro Asp Ala His Asp Arg Met Asp Cys Lys Gly Leu Glu Ala Val  
820 825 830

Arg Arg Asp Asn Cys Pro Leu Val Ala Asn Leu Val Thr Ala Ser Leu  
835 840 845

Arg Arg Leu Leu Ile Asp Arg Asp Pro Glu Gly Ala Val Ala His Ala  
850 855 860

Gln Asp Val Ile Ser Asp Leu Leu Cys Asn Arg Ile Asp Ile Ser Gln  
865 870 875 880

Leu Val Ile Thr Lys Glu Leu Thr Arg Ala Ala Ser Asp Tyr Ala Gly  
885 890 895

Lys Gln Ala His Val Glu Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Pro  
900 905 910

Gly Ser Ala Pro Ser Leu Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Ser  
915 920 925

Ala Ala Lys Gly Val Ala Ala Tyr Met Lys Ser Glu Asp Pro Leu Phe  
930 935 940

Val Leu Glu His Ser Leu Pro Ile Asp Thr Gln Tyr Tyr Leu Glu Gln  
945 950 955 960

Gln Leu Ala Lys Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu Gly Glu  
965 970 975

Gly Arg Ala Glu Ala Val Leu Leu Arg Gly Asp His Thr Arg Cys Lys  
980 985 990

Thr Val Leu Thr Gly Lys Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe Ala Lys Arg  
995 1000 1005

Arg Asn Cys Cys Ile Gly Cys Arg Thr Val Leu Ser His Gln Gly Ala  
1010 1015 1020

Val Cys Glu Phe Cys Gln Pro Arg Glu Ser Glu Leu Tyr Gln Lys Glu  
1025 1030 1035 1040

Val Ser His Leu Asn Ala Leu Glu Glu Arg Phe Ser Arg Leu Trp Thr  
1045 1050 1055

Gln Cys Gln Arg Cys Gln Gly Ser Leu His Glu Asp Val Ile Cys Thr  
1060 1065 1070

Ser Arg Asp Cys Pro Ile Phe Tyr Met Arg Lys Lys Val Arg Lys Asp  
1075 1080 1085

Leu Glu Asp Gln Glu Gln Leu Leu Arg Arg Phe Gly Pro Pro Gly Pro  
1090 1095 1100

Glu Ala Trp  
1105

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 6912

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 53

cgccaaattt ctcccctgaa gcagaggtgg tagccaacgg ctccatgtct ctgaggagcg 60  
gcgggcggcg gcgcgcggac ccaggcgcgg atggcgaggc cagcagggat gatggcgcca 120  
cttcctcagt ttcggcactc aagcgcctgg aacggagtca gtggacggat aagatggatt 180  
tgcggtttgg ttttgagcgg ctgaaggagc ctggtgagaa gacaggctgg ctcatataca 240  
tgcacacctac cgagatttta gatgaagata agcgcttagg cagtgcagtg gattactact 300  
ttattcaaga tgacggaagc agatttaagg tggctttgcc ctataaaccg tatttctaca 360  
ttgcgaccag aaagggttgt gagcgagaag ttcatcttt tctctccaag aagtttcagg 420  
gcaaaattgc aaaagtggag actgtcccca aagaggatct ggacttgcca aatcacttgg 480  
tgggtttgaa gcgaaattac atcaggctgt ccttccacac tgtggaggat cttgtcaaag 540  
tgaggaagga gatctccct gccgtgaaga agaacaggga gcaggatcac gccagcgacg 600  
cgtacacagc tctgctttcc agtgttctgc agaggggcgg tgtcattact gatgaagagg 660  
aaacctctaa gaagatagct gaccagttgg acaacattgt ggacatgcgc gagtacgatg 720  
ttccctacca catccgcctc tccattgacc tgaagatcca cgtggctcat tggatcaatg 780  
tcagataccg aggaaatgct tttccggtag aaatcacccg ccgagatgac cttgttgaac 840  
gacctgacc tgtggttttg gcatttgaca ttgagacgac caaactgccc ctcaagtttc 900  
ctgatgctga gacagaccag attatgatga tttcctacat gatcgatggc cagggtacc 960  
tcacaccaa caggagatt gtttcagaag atattgaaga ttttgagttc accccaagc 1020  
cagaatatga agggcccttt tgtgtcttca atgaaccga tgaggctcat ctgatccaaa 1080  
ggtggtttga acacgtccag gagaccaaac ccaccatcat ggtcacctac aacggggact 1140  
tttttgactg gccatttgtg gaggcccggg cagcagtcca cggcttgagc atgcagcagg 1200  
agataggctt ccagaaggac agccaggggg agtacaaggc gcccagtgat atccacatgg 1260  
actgcctcag gtgggtgaag agggacagtt accttcctgt gggcagtcac aatctcaagg 1320  
cgcccgccaa ggccaagcta ggctatgatc ccgtggagct agaccggag gacatgtgcc 1380

ggatggccac ggagcagccc cagactctgg ccacgtattc tgtgtcagat gctgtcgcca 1440  
cttactacct gtacatgaag tacgtccacc cattcatctt tgctctgtgc accattattc 1500  
ccatggagcc cgacgaggtg ctgcggaagg gctctggcac tctgtgtgag gccttgctga 1560  
tggtgcaggc cttccacgcc aacatcatct tccccaacaa gcaagagcag gagttcaata 1620  
agctgacgga cgacggacac gtgctggact ctgagacctt cgtcgggggc cacgtggagg 1680  
ccctcgagtc tggggttttc cgcagcgata tcccttgccg gtttaggatg aatcctgccg 1740  
cctttgactt cctgctgcag cgggttgaga agaccttgcg ccacgccctt gaggaagagg 1800  
agaaagtgcc tgtggagcaa gtcaccaact ttgaagaggt gtgtgatgag attaagagca 1860  
agcttgccct cctgaaggac gttcccagcc gcatcgagt tccactcatc taccacctgg 1920  
acgtgggggc catgtacccc aacatcatcc tgaccaaccg cctgcagccc tctgccatgg 1980  
tggaacgaag cacctgtgct gcctgtgact tcaataagcc tggagcaaac tgccagcgga 2040  
agatggcctg gcagtggagg ggcgagttca tgccagccag tgcagcgaa taccatcgga 2100  
tccagcacca gctggagtca gagaagttcc ccccttggtt cccagagggg ccagctcggg 2160  
cctttcatga actgtccgc gaggaacagg cgaaatacga gaagagaagg ctggcggatt 2220  
actgccgga agcctacaag aagatccaca tcaccaaggt ggaagagcgt ctcaccacca 2280  
tctgccagcg ggaaaactcc ttctacgtgg acaccgtgcg tgccttccgg gacaggcgtt 2340  
acgagttcaa agggctccac aaggtgtgga aaaagaagct ctcggcggcc gtggaggtgg 2400  
gcgacgcggc tgaggtgaag cgctgcaaga acatggaggt gctgtatgac tgcgtgcagc 2460  
tgccccacaa gtgcatcctg aactccttct atggctatgt catgcgcaag ggggctcgct 2520  
ggtactccat ggagatggct ggcatcgtct gcttcacagg ggccaacatc atcaccagg 2580  
cacgggagct gatcgagcag attgggaggc ccttagagct ggacacagat ggtatatggt 2640  
gcgtcctgcc caacagcttc ccagaaaatt ttgtcttcaa gacgaccaat gtgaagaagc 2700  
ccaaagtgc catctcctac ccaggcgcca tgttgaacat catggtcaag gaaggcttca 2760  
ccaatgacca gtaccaggag ctggctgagc cgtcctcact cacctacgtc acccgctcag 2820  
agaacagcat cttttttgag gttgatgggc cctacctgc catgattctt ccagcctcca 2880  
aggaagaagg caagaaattg aagaagaggt atgctgtgtt caatgaagac ggttctctgg 2940  
ctgagctcaa gggctttgag gtcaaagcc gcggggaact gcagctgatt aagatcttcc 3000  
aatcctcggg gtttgaggcc ttcctcaagg gcagcacgct ggaagaggtg tatggctctg 3060  
tagccaaggt ggctgactac tggctggacg tgctgtacag caaggcagcc aacatgcctg 3120

actctgagct attcgagctc atctctgaga accgttccat gtctcggaag ctggaagatt 3180  
acggggagca gaagtctaca tccatcagca cagcaaagcg cctggccgag ttcctgggag 3240  
accagatggt caaggatgca gggctgagtt gccgtacat catctcccgc aagcccagg 3300  
gctcccctgt cacggagagg gccatcccac ttgccatttt ccaagcagag cccacggtga 3360  
ggaagcactt tctccgaaa tggctcaaga gctcttcct tcaagacttt gatattcgag 3420  
caattctgga ttgggactac tacattgagc ggctgggaag cgccatccag aagatcatca 3480  
ccatccctgc ggccctgcag caggtaaaga acccagtgcc acgtgtcaaa cccccgact 3540  
ggctgcacaa aaaactgctg gagaagaatg atgtctacaa gcagaagaag atcagtgagc 3600  
tcttcaccct ggagggcagg agacaggta cgtatggcca ggcctcagaa gacagtccga 3660  
ggccaagtgc tcctgacatg gaggacttcg gcctcgtaaa gctgcctcac ccagcagccc 3720  
ctgtcactgt gaagaggaag cgagtctttt gggagagcca ggaggagtcc caggacctca 3780  
cgccgactgt gccctggcag gaaatcttgg ggcagcctcc cgccctggga accagccagg 3840  
aggaatggct tgtctggctc cggttccaca agaagaagtg gcagctgcag gcccggcagc 3900  
gcctcgcccc caggaagagg cagcgtctgg agtcggcaga ggggtgtgctc aggcccgggg 3960  
ccatccggga tggctctgcc acggggctgg ggagcttctt gcgaagaact gcccgcagca 4020  
tcctggacct tccgtggcag attgtgcaga tcagcgagac cagccaggcc ggcctgttca 4080  
ggctgtgggc gctcgttggc agtgacttgc actgcatcag gctgagcatc cccctgtgtg 4140  
tctacgtgaa ccagcgagtc gctaaagcgg aggagggtgc ttcgtatcgc aaggtaaate 4200  
gggtccttcc tcgtccaac atggtctaca atctctatga gtattcagtg ccagaggaca 4260  
tgtaccagga acacatcaac gagatcaacg ctgagctgtc agcgccagac atcgagggcg 4320  
tatatgagac tcaggttccg ttactgttcc gggccctggg gcacctgggc tgtgtgtgtg 4380  
tggtaataa acagctgggtg aggcaccttt caggctggga agcagagacc tttgctcttg 4440  
agcacctgga gatgcgtct ctggcccagt tcagctacct ggaaccaggg agtatccgcc 4500  
atatctacct gtaccaccac gcacaggccc acaaagcgct cttcgggac ttcacccct 4560  
cacagcgag ggcattccgtc tttgtgctgg aactgtgcg cagcaaccag atgccagcc 4620  
ttggcgccct gtactcagca gagcacggcc tcctcctgga gaaggtgggc cctgagctcc 4680  
tgccaccccc caaacacacc ttcgaagttc gggcagaaac tgacctgaag accatctgca 4740  
gagccatcca gcgattcctg ctgcctaca aggaggagcg ccggggggccc aactcatcg 4800  
ctgttcagtc cagctgggag ctgaagaggc tggccagtga aattcctgtc ttggaggaat 4860

tccactggt gcctatctgt gtggctgaca agatcaacta tggggtcctg gactggcagc 4920  
gccatggagc ccggcgcatg atccgtcact acctcaacct ggacacctgc ctgtcgcagg 4980  
ccttcgagat gagcaggtac tttcacattc ccattgggaa cctaccagag gacatctcca 5040  
cattcggctc cgacctcttc tttgcccgcc acctccagcg ccacaaccac ctgtcttgge 5100  
tgtcccctac agccccccct gacctgggtg gaaaggaggc tgatgacaac tgtcttgtca 5160  
tggagttcga tgaccaagcc actgttgaga tcaacagttc aggctgttac tccacagtgt 5220  
gtgtggagct ggaccttcag aacctggccg tcaacacat tctccagtct caccatgtca 5280  
acgacatgga gggggccgac agcatgggga tcagcttcga cgtgatccag caggcctccc 5340  
tggaggacat gatcacgggt ggtcaggctg ccagtgcccc ggccagctac gatgagacag 5400  
ccctgtgctc taacacctc aggatcctga agagcatggt cgtgggctgg gtgaaggaga 5460  
tcacccagta ccacaacatc tatgcagaca accaggtgat gcatttctac cgctggcttc 5520  
ggtcgccatc ctctctgctt catgacctg ccctgcaccg cacactccac aacatgatga 5580  
agaagctctt cctgcagctc atcgtgagt tcaagcgctt ggggtcatca gtcattctacg 5640  
ccaacttcaa ccgcatcacc ctctgtacaa agaagcgccg tgtggaagat gccatcgctt 5700  
acgtggagta catcaccagc agcatccatt caaaggagac cttccattct ctgacaattt 5760  
ctttctctcg atgtgggaa tttcttctct ggatggatcc atctaactat ggcggaatca 5820  
aaggaaaagt ttcattctgt attcactgtg gactgcaaga ctcccagaaa gcagggggag 5880  
cagaggatga gcaggaaaat gaggacgatg aggaggaaag agatggggag gaggaggaag 5940  
aggcggagga atccaacgtg gaggatttac tggaaaacaa ctggaacatt ttgcagtttt 6000  
tgccacaggc agcctcctgc cagaactact tcctcatgat tgtttcagcg tacatcgtgg 6060  
ccgtgtacca ctgcatgaag gacgggctga ggcgagctgc tccagggagc acccccgtga 6120  
ggaggagggg ggccagccag ctctcccagg aggccgaggg ggcggtcgga gcccttcccg 6180  
gaatgatcac ctctctcag gattatgtcg caaatgagct cactcagagc ttcttcacca 6240  
tcactcagaa gattcagaag aaagtcacag gctctcgga ctccactgag ctctcagaga 6300  
tgtttcctgt cctccccgt tccacttgc tgtcaataa ccctgccctg gagttcatca 6360  
aatacgtgtg caaggtgctg tccctggaca ccaacatcac aaaccaggtg aataagctga 6420  
accgagacct gcttcgcctg gtggatgtcg gcgagttctc cgaggaggcc cagttccgag 6480  
accctgccg ctctacgtg ctctctgagg tcattctgccg cagctgtaac ttctgcccg 6540  
acctggacct gtgtaaagac tcttccttct cagaggatgg ggcggtcctg cctcagtggc 6600

tctgctccaa ctgtcaggcg ccctacgact cctctgccat cgagatgacg ctggtggaag 6660  
 ttctacagaa gaagctgatg gccttcaccc tgcaggacct ggtctgcctg aagtgccgcg 6720  
 gggatgaagga gaccagcatg cctgtgtact gcacgtgcgc gggagacttc gccctcacca 6780  
 tccacacca ggtcttcatg gaacagatcg gaatattccg gaacattgcc cagcactacg 6840  
 gcatgtcgta cctcctggag accctggagt ggctgctgca gaagaacca cagctgggcc 6900  
 attagccagc cc 6912

<210> 54

<211> 2286

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Met Ser Leu Arg Ser Gly Gly Arg Arg Arg Ala Asp Pro Gly Ala Asp  
 1 5 10 15

Gly Glu Ala Ser Arg Asp Asp Gly Ala Thr Ser Ser Val Ser Ala Leu  
 20 25 30

Lys Arg Leu Glu Arg Ser Gln Trp Thr Asp Lys Met Asp Leu Arg Phe  
 35 40 45

Gly Phe Glu Arg Leu Lys Glu Pro Gly Glu Lys Thr Gly Trp Leu Ile  
 50 55 60

Asn Met His Pro Thr Glu Ile Leu Asp Glu Asp Lys Arg Leu Gly Ser  
 65 70 75 80



Ala Val Asp Tyr Tyr Phe Ile Gln Asp Asp Gly Ser Arg Phe Lys Val  
85 90 95

Ala Leu Pro Tyr Lys Pro Tyr Phe Tyr Ile Ala Thr Arg Lys Gly Cys  
100 105 110

Glu Arg Glu Val Ser Ser Phe Leu Ser Lys Lys Phe Gln Gly Lys Ile  
115 120 125

Ala Lys Val Glu Thr Val Pro Lys Glu Asp Leu Asp Leu Pro Asn His  
130 135 140

Leu Val Gly Leu Lys Arg Asn Tyr Ile Arg Leu Ser Phe His Thr Val  
145 150 155 160

Glu Asp Leu Val Lys Val Arg Lys Glu Ile Ser Pro Ala Val Lys Lys  
165 170 175

Asn Arg Glu Gln Asp His Ala Ser Asp Ala Tyr Thr Ala Leu Leu Ser  
180 185 190

Ser Val Leu Gln Arg Gly Gly Val Ile Thr Asp Glu Glu Glu Thr Ser  
195 200 205

Lys Lys Ile Ala Asp Gln Leu Asp Asn Ile Val Asp Met Arg Glu Tyr  
210 215 220

Asp Val Pro Tyr His Ile Arg Leu Ser Ile Asp Leu Lys Ile His Val  
225 230 235 240

Ala His Trp Tyr Asn Val Arg Tyr Arg Gly Asn Ala Phe Pro Val Glu  
245 250 255

Ile Thr Arg Arg Asp Asp Leu Val Glu Arg Pro Asp Pro Val Val Leu  
260 265 270

Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro Leu Lys Phe Pro Asp Ala  
275 280 285

Glu Thr Asp Gln Ile Met Met Ile Ser Tyr Met Ile Asp Gly Gln Gly  
290 295 300

Tyr Leu Ile Thr Asn Arg Glu Ile Val Ser Glu Asp Ile Glu Asp Phe  
305 310 315 320

Glu Phe Thr Pro Lys Pro Glu Tyr Glu Gly Pro Phe Cys Val Phe Asn  
325 330 335

Glu Pro Asp Glu Ala His Leu Ile Gln Arg Trp Phe Glu His Val Gln  
340 345 350

Glu Thr Lys Pro Thr Ile Met Val Thr Tyr Asn Gly Asp Phe Phe Asp  
355 360 365

Trp Pro Phe Val Glu Ala Arg Ala Ala Val His Gly Leu Ser Met Gln  
370 375 380

Gln Glu Ile Gly Phe Gln Lys Asp Ser Gln Gly Glu Tyr Lys Ala Pro

385                      390                      395                      400

Gln Cys Ile His Met Asp Cys Leu Arg Trp Val Lys Arg Asp Ser Tyr  
                         405                      410                      415

Leu Pro Val Gly Ser His Asn Leu Lys Ala Ala Ala Lys Ala Lys Leu  
                         420                      425                      430

Gly Tyr Asp Pro Val Glu Leu Asp Pro Glu Asp Met Cys Arg Met Ala  
                         435                      440                      445

Thr Glu Gln Pro Gln Thr Leu Ala Thr Tyr Ser Val Ser Asp Ala Val  
                         450                      455                      460

Ala Thr Tyr Tyr Leu Tyr Met Lys Tyr Val His Pro Phe Ile Phe Ala  
465                      470                      475                      480

Leu Cys Thr Ile Ile Pro Met Glu Pro Asp Glu Val Leu Arg Lys Gly  
                         485                      490                      495

Ser Gly Thr Leu Cys Glu Ala Leu Leu Met Val Gln Ala Phe His Ala  
                         500                      505                      510

Asn Ile Ile Phe Pro Asn Lys Gln Glu Gln Glu Phe Asn Lys Leu Thr  
                         515                      520                      525

Asp Asp Gly His Val Leu Asp Ser Glu Thr Tyr Val Gly Gly His Val  
                         530                      535                      540

Glu Ala Leu Glu Ser Gly Val Phe Arg Ser Asp Ile Pro Cys Arg Phe  
545 550 555 560

Arg Met Asn Pro Ala Ala Phe Asp Phe Leu Leu Gln Arg Val Glu Lys  
565 570 575

Thr Leu Arg His Ala Leu Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Glu Gln  
580 585 590

Val Thr Asn Phe Glu Glu Val Cys Asp Glu Ile Lys Ser Lys Leu Ala  
595 600 605

Ser Leu Lys Asp Val Pro Ser Arg Ile Glu Cys Pro Leu Ile Tyr His  
610 615 620

Leu Asp Val Gly Ala Met Tyr Pro Asn Ile Ile Leu Thr Asn Arg Leu  
625 630 635 640

Gln Pro Ser Ala Met Val Asp Glu Ala Thr Cys Ala Ala Cys Asp Phe  
645 650 655

Asn Lys Pro Gly Ala Asn Cys Gln Arg Lys Met Ala Trp Gln Trp Arg  
660 665 670

Gly Glu Phe Met Pro Ala Ser Arg Ser Glu Tyr His Arg Ile Gln His  
675 680 685

Gln Leu Glu Ser Glu Lys Phe Pro Pro Leu Phe Pro Glu Gly Pro Ala  
690 695 700

Arg Ala Phe His Glu Leu Ser Arg Glu Glu Gln Ala Lys Tyr Glu Lys  
705 710 715 720

Arg Arg Leu Ala Asp Tyr Cys Arg Lys Ala Tyr Lys Lys Ile His Ile  
725 730 735

Thr Lys Val Glu Glu Arg Leu Thr Thr Ile Cys Gln Arg Glu Asn Ser  
740 745 750

Phe Tyr Val Asp Thr Val Arg Ala Phe Arg Asp Arg Arg Tyr Glu Phe  
755 760 765

Lys Gly Leu His Lys Val Trp Lys Lys Lys Leu Ser Ala Ala Val Glu  
770 775 780

Val Gly Asp Ala Ala Glu Val Lys Arg Cys Lys Asn Met Glu Val Leu  
785 790 795 800

Tyr Asp Ser Leu Gln Leu Ala His Lys Cys Ile Leu Asn Ser Phe Tyr  
805 810 815

Gly Tyr Val Met Arg Lys Gly Ala Arg Trp Tyr Ser Met Glu Met Ala  
820 825 830

Gly Ile Val Cys Phe Thr Gly Ala Asn Ile Ile Thr Gln Ala Arg Glu  
835 840 845

Leu Ile Glu Gln Ile Gly Arg Pro Leu Glu Leu Asp Thr Asp Gly Ile

850

855

860

Trp Cys Val Leu Pro Asn Ser Phe Pro Glu Asn Phe Val Phe Lys Thr

865

870

875

880

Thr Asn Val Lys Lys Pro Lys Val Thr Ile Ser Tyr Pro Gly Ala Met

885

890

895

Leu Asn Ile Met Val Lys Glu Gly Phe Thr Asn Asp Gln Tyr Gln Glu

900

905

910

Leu Ala Glu Pro Ser Ser Leu Thr Tyr Val Thr Arg Ser Glu Asn Ser

915

920

925

Ile Phe Phe Glu Val Asp Gly Pro Tyr Leu Ala Met Ile Leu Pro Ala

930

935

940

Ser Lys Glu Glu Gly Lys Lys Leu Lys Lys Arg Tyr Ala Val Phe Asn

945

950

955

960

Glu Asp Gly Ser Leu Ala Glu Leu Lys Gly Phe Glu Val Lys Arg Arg

965

970

975

Gly Glu Leu Gln Leu Ile Lys Ile Phe Gln Ser Ser Val Phe Glu Ala

980

985

990

Phe Leu Lys Gly Ser Thr Leu Glu Glu Val Tyr Gly Ser Val Ala Lys

995

1000

1005

Val Ala Asp Tyr Trp Leu Asp Val Leu Tyr Ser Lys Ala Ala Asn Met  
1010 1015 1020

Pro Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Ile Ser Glu Asn Arg Ser Met Ser  
1025 1030 1035 1040

Arg Lys Leu Glu Asp Tyr Gly Glu Gln Lys Ser Thr Ser Ile Ser Thr  
1045 1050 1055

Ala Lys Arg Leu Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gln Met Val Lys Asp Ala  
1060 1065 1070

Gly Leu Ser Cys Arg Tyr Ile Ile Ser Arg Lys Pro Glu Gly Ser Pro  
1075 1080 1085

Val Thr Glu Arg Ala Ile Pro Leu Ala Ile Phe Gln Ala Glu Pro Thr  
1090 1095 1100

Val Arg Lys His Phe Leu Arg Lys Trp Leu Lys Ser Ser Ser Leu Gln  
1105 1110 1115 1120

Asp Phe Asp Ile Arg Ala Ile Leu Asp Trp Asp Tyr Tyr Ile Glu Arg  
1125 1130 1135

Leu Gly Ser Ala Ile Gln Lys Ile Ile Thr Ile Pro Ala Ala Leu Gln  
1140 1145 1150

Gln Val Lys Asn Pro Val Pro Arg Val Lys His Pro Asp Trp Leu His  
1155 1160 1165

Lys Lys Leu Leu Glu Lys Asn Asp Val Tyr Lys Gln Lys Lys Ile Ser  
1170 1175 1180

Glu Leu Phe Thr Leu Glu Gly Arg Arg Gln Val Thr Met Ala Glu Ala  
1185 1190 1195 1200

Ser Glu Asp Ser Pro Arg Pro Ser Ala Pro Asp Met Glu Asp Phe Gly  
1205 1210 1215

Leu Val Lys Leu Pro His Pro Ala Ala Pro Val Thr Val Lys Arg Lys  
1220 1225 1230

Arg Val Leu Trp Glu Ser Gln Glu Glu Ser Gln Asp Leu Thr Pro Thr  
1235 1240 1245

Val Pro Trp Gln Glu Ile Leu Gly Gln Pro Pro Ala Leu Gly Thr Ser  
1250 1255 1260

Gln Glu Glu Trp Leu Val Trp Leu Arg Phe His Lys Lys Lys Trp Gln  
1265 1270 1275 1280

Leu Gln Ala Arg Gln Arg Leu Ala Arg Arg Lys Arg Gln Arg Leu Glu  
1285 1290 1295

Ser Ala Glu Gly Val Leu Arg Pro Gly Ala Ile Arg Asp Gly Pro Ala  
1300 1305 1310

Thr Gly Leu Gly Ser Phe Leu Arg Arg Thr Ala Arg Ser Ile Leu Asp



1315

1320

1325

Leu Pro Trp Gln Ile Val Gln Ile Ser Glu Thr Ser Gln Ala Gly Leu

1330

1335

1340

Phe Arg Leu Trp Ala Leu Val Gly Ser Asp Leu His Cys Ile Arg Leu

1345

1350

1355

1360

Ser Ile Pro Arg Val Phe Tyr Val Asn Gln Arg Val Ala Lys Ala Glu

1365

1370

1375

Glu Gly Ala Ser Tyr Arg Lys Val Asn Arg Val Leu Pro Arg Ser Asn

1380

1385

1390

Met Val Tyr Asn Leu Tyr Glu Tyr Ser Val Pro Glu Asp Met Tyr Gln

1395

1400

1405

Glu His Ile Asn Glu Ile Asn Ala Glu Leu Ser Ala Pro Asp Ile Glu

1410

1415

1420

Gly Val Tyr Glu Thr Gln Val Pro Leu Leu Phe Arg Ala Leu Val His

1425

1430

1435

1440

Leu Gly Cys Val Cys Val Val Asn Lys Gln Leu Val Arg His Leu Ser

1445

1450

1455

Gly Trp Glu Ala Glu Thr Phe Ala Leu Glu His Leu Glu Met Arg Ser

1460

1465

1470

Leu Ala Gln Phe Ser Tyr Leu Glu Pro Gly Ser Ile Arg His Ile Tyr  
1475 1480 1485

Leu Tyr His His Ala Gln Ala His Lys Ala Leu Phe Gly Ile Phe Ile  
1490 1495 1500

Pro Ser Gln Arg Arg Ala Ser Val Phe Val Leu Asp Thr Val Arg Ser  
1505 1510 1515 1520

Asn Gln Met Pro Ser Leu Gly Ala Leu Tyr Ser Ala Glu His Gly Leu  
1525 1530 1535

Leu Leu Glu Lys Val Gly Pro Glu Leu Leu Pro Pro Pro Lys His Thr  
1540 1545 1550

Phe Glu Val Arg Ala Glu Thr Asp Leu Lys Thr Ile Cys Arg Ala Ile  
1555 1560 1565

Gln Arg Phe Leu Leu Ala Tyr Lys Glu Glu Arg Arg Gly Pro Thr Leu  
1570 1575 1580

Ile Ala Val Gln Ser Ser Trp Glu Leu Lys Arg Leu Ala Ser Glu Ile  
1585 1590 1595 1600

Pro Val Leu Glu Glu Phe Pro Leu Val Pro Ile Cys Val Ala Asp Lys  
1605 1610 1615

Ile Asn Tyr Gly Val Leu Asp Trp Gln Arg His Gly Ala Arg Arg Met  
1620 1625 1630

Ile Arg His Tyr Leu Asn Leu Asp Thr Cys Leu Ser Gln Ala Phe Glu  
1635 1640 1645

Met Ser Arg Tyr Phe His Ile Pro Ile Gly Asn Leu Pro Glu Asp Ile  
1650 1655 1660

Ser Thr Phe Gly Ser Asp Leu Phe Phe Ala Arg His Leu Gln Arg His  
1665 1670 1675 1680

Asn His Leu Leu Trp Leu Ser Pro Thr Ala Arg Pro Asp Leu Gly Gly  
1685 1690 1695

Lys Glu Ala Asp Asp Asn Cys Leu Val Met Glu Phe Asp Asp Gln Ala  
1700 1705 1710

Thr Val Glu Ile Asn Ser Ser Gly Cys Tyr Ser Thr Val Cys Val Glu  
1715 1720 1725

Leu Asp Leu Gln Asn Leu Ala Val Asn Thr Ile Leu Gln Ser His His  
1730 1735 1740

Val Asn Asp Met Glu Gly Ala Asp Ser Met Gly Ile Ser Phe Asp Val  
1745 1750 1755 1760

Ile Gln Gln Ala Ser Leu Glu Asp Met Ile Thr Gly Gly Gln Ala Ala  
1765 1770 1775

Ser Ala Pro Ala Ser Tyr Asp Glu Thr Ala Leu Cys Ser Asn Thr Phe

1780	1785	1790
Arg Ile Leu Lys Ser Met Val Val Gly Trp Val Lys Glu Ile Thr Gln		
1795	1800	1805
Tyr His Asn Ile Tyr Ala Asp Asn Gln Val Met His Phe Tyr Arg Trp		
1810	1815	1820
Leu Arg Ser Pro Ser Ser Leu Leu His Asp Pro Ala Leu His Arg Thr		
1825	1830	1835
Leu His Asn Met Met Lys Lys Leu Phe Leu Gln Leu Ile Ala Glu Phe		
1845	1850	1855
Lys Arg Leu Gly Ser Ser Val Ile Tyr Ala Asn Phe Asn Arg Ile Ile		
1860	1865	1870
Leu Cys Thr Lys Lys Arg Arg Val Glu Asp Ala Ile Ala Tyr Val Glu		
1875	1880	1885
Tyr Ile Thr Ser Ser Ile His Ser Lys Glu Thr Phe His Ser Leu Thr		
1890	1895	1900
Ile Ser Phe Ser Arg Cys Trp Glu Phe Leu Leu Trp Met Asp Pro Ser		
1905	1910	1915
Asn Tyr Gly Gly Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Arg Ile His Cys Gly		
1925	1930	1935

Leu Gln Asp Ser Gln Lys Ala Gly Gly Ala Glu Asp Glu Gln Glu Asn  
1940 1945 1950

Glu Asp Asp Glu Glu Glu Arg Asp Gly Glu Glu Glu Glu Glu Ala Glu  
1955 1960 1965

Glu Ser Asn Val Glu Asp Leu Leu Glu Asn Asn Trp Asn Ile Leu Gln  
1970 1975 1980

Phe Leu Pro Gln Ala Ala Ser Cys Gln Asn Tyr Phe Leu Met Ile Val  
1985 1990 1995 2000

Ser Ala Tyr Ile Val Ala Val Tyr His Cys Met Lys Asp Gly Leu Arg  
2005 2010 2015

Arg Ser Ala Pro Gly Ser Thr Pro Val Arg Arg Arg Gly Ala Ser Gln  
2020 2025 2030

Leu Ser Gln Glu Ala Glu Gly Ala Val Gly Ala Leu Pro Gly Met Ile  
2035 2040 2045

Thr Phe Ser Gln Asp Tyr Val Ala Asn Glu Leu Thr Gln Ser Phe Phe  
2050 2055 2060

Thr Ile Thr Gln Lys Ile Gln Lys Lys Val Thr Gly Ser Arg Asn Ser  
2065 2070 2075 2080

Thr Glu Leu Ser Glu Met Phe Pro Val Leu Pro Gly Ser His Leu Leu  
2085 2090 2095

Leu Asn Asn Pro Ala Leu Glu Phe Ile Lys Tyr Val Cys Lys Val Leu  
2100 2105 2110

Ser Leu Asp Thr Asn Ile Thr Asn Gln Val Asn Lys Leu Asn Arg Asp  
2115 2120 2125

Leu Leu Arg Leu Val Asp Val Gly Glu Phe Ser Glu Glu Ala Gln Phe  
2130 2135 2140

Arg Asp Pro Cys Arg Ser Tyr Val Leu Pro Glu Val Ile Cys Arg Ser  
2145 2150 2155 2160

Cys Asn Phe Cys Arg Asp Leu Asp Leu Cys Lys Asp Ser Ser Phe Ser  
2165 2170 2175

Glu Asp Gly Ala Val Leu Pro Gln Trp Leu Cys Ser Asn Cys Gln Ala  
2180 2185 2190

Pro Tyr Asp Ser Ser Ala Ile Glu Met Thr Leu Val Glu Val Leu Gln  
2195 2200 2205

Lys Lys Leu Met Ala Phe Thr Leu Gln Asp Leu Val Cys Leu Lys Cys  
2210 2215 2220

Arg Gly Val Lys Glu Thr Ser Met Pro Val Tyr Cys Thr Cys Ala Gly  
2225 2230 2235 2240

Asp Phe Ala Leu Thr Ile His Thr Gln Val Phe Met Glu Gln Ile Gly

2245

2250

2255

Ile Phe Arg Asn Ile Ala Gln His Tyr Gly Met Ser Tyr Leu Leu Glu

2260

2265

2270

Thr Leu Glu Trp Leu Leu Gln Lys Asn Pro Gln Leu Gly His

2275

2280

2285

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 3390

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 55

atcttgtggc gggaaaagct gtttgaggcg atggattgta agcggcgaca aggaccaggc 60  
cctggggtgc ccccaaagcg ggctcgaggg cacctctggg atgaggacga gccttcgccg 120  
tcgcagtttg aggcgaaact ggcaactgctg gaggaaatag aggctgagaa ccggctgcag 180  
gaggcagagg aggagctgca gctgccccca gagggcaccg tgggtgggca gttttccact 240  
gcagacattg accctcggcg gcggcgggcc accctacgtg ccctggaccc cagcacggag 300  
cccctcatct tccagcagct ggagattgac cactatgtgg gctcagcacc acccctgcca 360  
gaacggcccc tgccatcccg gaactcagtg ccatactga gggccttttg ggtcaccgat 420  
gaaggcttct ccgtctgctg ccacatacag ggctttgccc cctacttcta ccccccgcg 480  
cctcctgggt ttggggccga gcacctgagt gagctgcagc aggagctgaa cgcagccatc 540  
agccgggacc agcgcggttg gaaggagctc tcagggccgg cagtgtggc aatagagcta 600  
tgctcccgtg agagcatgtt tgggtaccac ggtcatggcc cttctccatt tctccgcatc 660  
accctggcac taccgccct tatggcacca gcccggccg ttttggaaca ggggtgtccga 720  
gtgccaggcc tgggcacccc gagcttcgca ccctacgaag ccaacgtgga ctttgagatc 780  
cggttcatgg tggatgctga cattgtggga tgcaactggt tggagctgcc agctggaaag 840

tacgttcgga gggcggagaa gaaggccacc ctgtgtcagc tggaggtgga cgtgctgtgg 900  
tcagatgtga tcagtcaccc accggagggg cagtggcagc gcattgcacc cctgcgtgtg 960  
cttagcttcg acatcgagtg tgctggccga aaaggcatct tccctgagcc tgagcgtgac 1020  
cccgtgatcc agatctgttc tctggggctg cgctgggggg agccggagcc attcttgcgt 1080  
ctggcactca cgctgcggcc ctgtgcccc atcctgggtg ccaaagtga gagctatgag 1140  
cgggaagaag acctgctcca ggcctgggcc gacttcatcc ttgccatgga ccctgacgtg 1200  
atcaccggct acaacattca gaactttgac ctccataacc tcattctctg ggcacaggcc 1260  
ctaaaggtgg accgcttccc ttctctgggc cgctgactg gtctccgctc caacatccgt 1320  
gactcctcct tccaatcaag gcaggtcggc cggcgggaca gtaaggtgat cagcatggtg 1380  
ggtcgcgttc agatggatat gctgcaggtg ctgcttcggg aacacaagct ccgctcctac 1440  
acgctcaacg ctgtgagttt ccacttcctg ggcgagcaga aggaggacgt tcagcacagc 1500  
atcatcaccg acctgcagaa tgggaacgaa cagacgcgcc gccgcctggc cgtgtactgc 1560  
ctgaaggacg cctttctgcc actccgacta ctagagcgcc ttatggtgct ggtgaacaat 1620  
gtggagatgg cgctgtcac cgggtgtacc ctgggtacc tgctcaccg gggccagcag 1680  
gtcaaggtcg tgtctcagct gctgcgccag gccatgcgcc aggggctgct gatgcctgtg 1740  
gtgaagaccg agggcggtga ggactacacg ggagccacag tcattgagcc cctcaaaggg 1800  
tactatgacg tccccattgc caccctggac ttctcctcct tgtaccatc catcatgatg 1860  
gcccataatc tgtgtacac cacgctgctc cgacctggg ctgcccagaa gctgggcctt 1920  
aaaccagatg agttcatcaa gacaccact ggggatgagt ttgtgaagtc atctgtacgg 1980  
aagggcctcc tgccccagat cctggagaat ctgctgagt cccgcaagag ggccaaggct 2040  
gagctggctc aggagacgga ccccctgcgg cgacaggtct tggacggccg gcaactggca 2100  
ctaaaagtga gtgccaactc cgtatatggc ttcactggtg ccaggtggg caagctgcca 2160  
tgtttgaaa tctccagag tgcactggg ttcgggcggc agatgattga gaaaaccaag 2220  
cagcttgtgg agtccaagta caccgtggaa aatggctacg atgccaacgc caaggtagtc 2280  
tacggtgaca cggactctgt gatgtgccg tttggcgtct cctctgtggc tgaagcaatg 2340  
tctctggggc gggaggctgc aaactgggta tccagtcact tccatcacc catccggctg 2400  
gagttcgaga aggtttactt ccataacctg ctcatcagca agaagcgcta tgctggcctg 2460  
ctcttctcct cccgctctga tgcccatgac aaaatggact gcaagggcct ggaggctgtg 2520  
cgcagggaca actgtcccct ggtggccaac ctcgttacat cctccctgcg ccggtatcctc 2580



gtggaccggg accctgatgg ggcagtagcc catgccaagg acgtcatctc ggacctgctg 2640  
 tgcaaccgca tagacatctc ccagctgggtc atcaccaaag agttgaccg cgagcagca 2700  
 gactatgctg gcaagcaggc tcacgtggag ctggctgaga ggatgaggaa gcgcgacccc 2760  
 ggcagtgcgc ccagcctggg tgaccgagtc ccctatgtga tcattggtgc tgctaagggt 2820  
 gtggccgcct acatgaagtc ggaggacccc ctgtttgtgc tggagcacag cctgcccac 2880  
 gacactcagt actacctgga gcagcagctg gccaagccgc tcttgcgcat ctttgagccc 2940  
 atcctgggtg agggccgtgc agagtctgtg ctgctgcgcg gtgaccacac acgatgcaag 3000  
 actgtgctca ccagcaagggt gggcggcctc ttggccttca ccaagcgccg caactgttgc 3060  
 attggctgcc gtcctgtaat cgaccatcaa ggagccgtgt gtaagttctg tcagccacgg 3120  
 gagtcggagc tctctcagaa ggaggtgtca caccitgaatg ccttggaaga acggttctct 3180  
 cgctctgga cacagtgtca acgctgccag ggcagcttgc atgaggacgt catctgtacc 3240  
 agccgtgact gtcccatctt ctacatgcgc aagaaggtgc gcaaggacct ggaagaccag 3300  
 gaacggctgc tgcagcgctt tggaccgccc ggccctgagg cctggtgacc tgacacggga 3360  
 caaggaataa agttcagatc ttigtctaaa 3390

<210> 56

<211> 1105

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 56

Met Asp Cys Lys Arg Arg Gln Gly Pro Gly Pro Gly Val Pro Pro Lys

1

5

10

15

Arg Ala Arg Gly His Leu Trp Asp Glu Asp Glu Pro Ser Pro Ser Gln

20

25

30

Phe Glu Ala Asn Leu Ala Leu Leu Glu Glu Ile Glu Ala Glu Asn Arg

35

40

45

Leu Gln Glu Ala Glu Glu Glu Leu Gln Leu Pro Pro Glu Gly Thr Val

50

55

60

Gly Gly Gln Phe Ser Thr Ala Asp Ile Asp Pro Arg Trp Arg Arg Pro

65

70

75

80

Thr Leu Arg Ala Leu Asp Pro Ser Thr Glu Pro Leu Ile Phe Gln Gln

85

90

95

Leu Glu Ile Asp His Tyr Val Gly Ser Ala Pro Pro Leu Pro Glu Arg

100

105

110

Pro Leu Pro Ser Arg Asn Ser Val Pro Ile Leu Arg Ala Phe Gly Val

115

120

125

Thr Asp Glu Gly Phe Ser Val Cys Cys His Ile Gln Gly Phe Ala Pro

130

135

140

Tyr Phe Tyr Thr Pro Ala Pro Pro Gly Phe Gly Ala Glu His Leu Ser

145

150

155

160

Glu Leu Gln Gln Glu Leu Asn Ala Ala Ile Ser Arg Asp Gln Arg Gly

165

170

175

Gly Lys Glu Leu Ser Gly Pro Ala Val Leu Ala Ile Glu Leu Cys Ser

180

185

190

Arg Glu Ser Met Phe Gly Tyr His Gly His Gly Pro Ser Pro Phe Leu  
195 200 205

Arg Ile Thr Leu Ala Leu Pro Arg Leu Met Ala Pro Ala Arg Arg Leu  
210 215 220

Leu Glu Gln Gly Val Arg Val Pro Gly Leu Gly Thr Pro Ser Phe Ala  
225 230 235 240

Pro Tyr Glu Ala Asn Val Asp Phe Glu Ile Arg Phe Met Val Asp Ala  
245 250 255

Asp Ile Val Gly Cys Asn Trp Leu Glu Leu Pro Ala Gly Lys Tyr Val  
260 265 270

Arg Arg Ala Glu Lys Lys Ala Thr Leu Cys Gln Leu Glu Val Asp Val  
275 280 285

Leu Trp Ser Asp Val Ile Ser His Pro Pro Glu Gly Gln Trp Gln Arg  
290 295 300

Ile Ala Pro Leu Arg Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg  
305 310 315 320

Lys Gly Ile Phe Pro Glu Pro Glu Arg Asp Pro Val Ile Gln Ile Cys  
325 330 335

Ser Leu Gly Leu Arg Trp Gly Glu Pro Glu Pro Phe Leu Arg Leu Ala  
340 345 350

Leu Thr Leu Arg Pro Cys Ala Pro Ile Leu Gly Ala Lys Val Gln Ser  
355 360 365

Tyr Glu Arg Glu Glu Asp Leu Leu Gln Ala Trp Ala Asp Phe Ile Leu  
370 375 380

Ala Met Asp Pro Asp Val Ile Thr Gly Tyr Asn Ile Gln Asn Phe Asp  
385 390 395 400

Leu Pro Tyr Leu Ile Ser Arg Ala Gln Ala Leu Lys Val Asp Arg Phe  
405 410 415

Pro Phe Leu Gly Arg Val Thr Gly Leu Arg Ser Asn Ile Arg Asp Ser  
420 425 430

Ser Phe Gln Ser Arg Gln Val Gly Arg Arg Asp Ser Lys Val Ile Ser  
435 440 445

Met Val Gly Arg Val Gln Met Asp Met Leu Gln Val Leu Leu Arg Glu  
450 455 460

His Lys Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn Ala Val Ser Phe His Phe Leu  
465 470 475 480

Gly Glu Gln Lys Glu Asp Val Gln His Ser Ile Ile Thr Asp Leu Gln  
485 490 495

Asn Gly Asn Glu Gln Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys Leu Lys

500

505

510

Asp Ala Phe Leu Pro Leu Arg Leu Leu Glu Arg Leu Met Val Leu Val

515

520

525

Asn Asn Val Glu Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Leu Gly Tyr Leu

530

535

540

Leu Thr Arg Gly Gln Gln Val Lys Val Val Ser Gln Leu Leu Arg Gln

545

550

555

560

Ala Met Arg Gln Gly Leu Leu Met Pro Val Val Lys Thr Glu Gly Gly

565

570

575

Glu Asp Tyr Thr Gly Ala Thr Val Ile Glu Pro Leu Lys Gly Tyr Tyr

580

585

590

Asp Val Pro Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ser Ser Leu Tyr Pro Ser Ile

595

600

605

Met Met Ala His Asn Leu Cys Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Pro Gly Ala

610

615

620

Ala Gln Lys Leu Gly Leu Lys Pro Asp Glu Phe Ile Lys Thr Pro Thr

625

630

635

640

Gly Asp Glu Phe Val Lys Ser Ser Val Arg Lys Gly Leu Leu Pro Gln

645

650

655

Ile Leu Glu Asn Leu Leu Ser Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala Glu Leu  
660 665 670

Ala Gln Glu Thr Asp Pro Leu Arg Arg Gln Val Leu Asp Gly Arg Gln  
675 680 685

Leu Ala Leu Lys Val Ser Ala Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala  
690 695 700

Gln Val Gly Lys Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Gln Ser Val Thr Gly  
705 710 715 720

Phe Gly Arg Gln Met Ile Glu Lys Thr Lys Gln Leu Val Glu Ser Lys  
725 730 735

Tyr Thr Val Glu Asn Gly Tyr Asp Ala Asn Ala Lys Val Val Tyr Gly  
740 745 750

Asp Thr Asp Ser Val Met Cys Arg Phe Gly Val Ser Ser Val Ala Glu  
755 760 765

Ala Met Ser Leu Gly Arg Glu Ala Ala Asn Trp Val Ser Ser His Phe  
770 775 780

Pro Ser Pro Ile Arg Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Phe Pro Tyr Leu  
785 790 795 800

Leu Ile Ser Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Phe Ser Ser Arg Ser  
805 810 815

Asp Ala His Asp Lys Met Asp Cys Lys Gly Leu Glu Ala Val Arg Arg  
820 825 830

Asp Asn Cys Pro Leu Val Ala Asn Leu Val Thr Ser Ser Leu Arg Arg  
835 840 845

Ile Leu Val Asp Arg Asp Pro Asp Gly Ala Val Ala His Ala Lys Asp  
850 855 860

Val Ile Ser Asp Leu Leu Cys Asn Arg Ile Asp Ile Ser Gln Leu Val  
865 870 875 880

Ile Thr Lys Glu Leu Thr Arg Ala Ala Ala Asp Tyr Ala Gly Lys Gln  
885 890 895

Ala His Val Glu Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Pro Gly Ser  
900 905 910

Ala Pro Ser Leu Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Gly Ala Ala  
915 920 925

Lys Gly Val Ala Ala Tyr Met Lys Ser Glu Asp Pro Leu Phe Val Leu  
930 935 940

Glu His Ser Leu Pro Ile Asp Thr Gln Tyr Tyr Leu Glu Gln Gln Leu  
945 950 955 960

Ala Lys Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu Gly Glu Gly Arg

965

970

975

Ala Glu Ser Val Leu Leu Arg Gly Asp His Thr Arg Cys Lys Thr Val

980

985

990

Leu Thr Ser Lys Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe Thr Lys Arg Arg Asn

995

1000

1005

Cys Cys Ile Gly Cys Arg Ser Val Ile Asp His Gln Gly Ala Val Cys

1010

1015

1020

Lys Phe Cys Gln Pro Arg Glu Ser Glu Leu Ser Gln Lys Glu Val Ser

1025

1030

1035

1040

His Leu Asn Ala Leu Glu Glu Arg Phe Ser Arg Leu Trp Thr Gln Cys

1045

1050

1055

Gln Arg Cys Gln Gly Ser Leu His Glu Asp Val Ile Cys Thr Ser Arg

1060

1065

1070

Asp Cys Pro Ile Phe Tyr Met Arg Lys Lys Val Arg Lys Asp Leu Glu

1075

1080

1085

Asp Gln Glu Arg Leu Leu Gln Arg Phe Gly Pro Pro Gly Pro Glu Ala

1090

1095

1100

Trp

1105



&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 7119

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 57

gccaaattct ccccgagacc tgaggagact ttggagcgtc gcaatggtcc tgaggaacag 60  
tgacaggagg caccgagc cgggcgcgga tggcgaaggc agccgggatg atggtccctc 120  
ttcctcagtc tcagcactca agcgtctgga acggagccag tggacagaca agatggactt 180  
acggtttggg ttcgaaaggc tgaaagagcc tggagaaagg actggctggc tgatcaacat 240  
gcaccctact gagatcttag atgaagaca acgcttagtc agcgcggtgg attactactt 300  
cattcaagat gatggaagca gatttaagg ggccttgccc tatatgccgt atttctacat 360  
tgcagcgaga aagggttgtg atcgagaagt ttcattttt ctatccaaga agtttcaggg 420  
aaaaattgca aagttagaga atgtgcccaa agaagatctg gacttgccaa atcacttggt 480  
gggcttgaag cggagttaca tcaagctgtc ctccacact gtggaggacc ttgtcaaagt 540  
gagaaaggag atctctcctg ctgtgaagaa gaaccgagag caggaccatg ctagtgatga 600  
gtatacaaca atgctctcca gtattctgca aggtggcagt gtaattactg atgaggagga 660  
aacctctaag aagatagctg accaattgga caacatagtg gacatgcggg agtatgatgt 720  
tccctaccac attcgctctt ccattgacct cagaatccat gtggcccact ggtacaatgt 780  
tagatttcga ggaaatgctt ttcctgtgga aatcaccgga cgagatgac tttgtggaacg 840  
acctgaccct gtggttttgg catttgacat cgagacgacc aaactgcctc tcaaattccc 900  
tgatgctgag accgatcaga tcatgatgat ctctatatg attgatggcc agggctacct 960  
catcactaac agggagattg tttcagaaga tattgaagat tttgagttca cccctaagcc 1020  
agaatatgaa gggccctttt gtgttttcaa tgaaccgac gaggtccatc tgatccagag 1080  
atggtttgag catatccagg agaccaaacc taccattatg gtcacctaca atggggattt 1140  
ttttgactgg ccatttggtg aggctagggc agcaattcat ggcctcagca tgtaccagga 1200  
gataggcttc cagaaggata gccaggggga atataaggca ccacagtga tccacatgga 1260  
ctgcctcagg tgggtgaaga gggacagtta ccttctgtg ggcagtcata atctcaaggc 1320

agctgccaag gccaaacttg gctatgaccc tgtagagctg gaccctgagg acatgtgtcg 1380  
tatggccact gaacagcccc agactctggc cacttactca gtgtcagatg ctgtggctac 1440  
ttactacctg tacatgaaat acgtccaccc cttcatattc gccctgtgca ccattattcc 1500  
catggaacct gatgaggtgc tgcggaaggg ctccgggaca ctgtgtgaag ccttgctgat 1560  
ggtgcaagct ttccatgcca acattatctt cccaataag caagagcagg agttcaacaa 1620  
gctgacagat gatggccacg tgctagatgc tgagacctac gttgggggcc acgtggaggc 1680  
actagagtct ggtgtcttca gaagtatat cccctgccgg tttaggatga atcctgcagc 1740  
ctttgatttc ctgctgcaac gagtcgagaa gactatgcgc cagccattg aagaagaaga 1800  
gaaggtgcct gtggaacaag ccaccaactt tcaagaggtg tgtgagcaga ttaagaccaa 1860  
gctcacctcc ctaaaagatg ttcctaacag aattgaatgt cctctaattc atcatctaga 1920  
tgtgggggcc atgtatccta acataattct taccaaccgc ctacagcctt ctgccatagt 1980  
ggatgaggcc acctgtgctg cctgtgactt caataagcct ggagcaagtt gtcagaggaa 2040  
gatggcctgg cagtggaggg gagaattcat gccagccagt cgcagtgaat accatcggat 2100  
tcagcatcag ctggagtcgg agaagtttcc ccctttgttt ccagaggggc cagcacgggc 2160  
ctttcacgag ctgtcccggtg aagaacaggc taaatatgag aagaggaggc tggcagatta 2220  
ttgccggaaa gcctataaga agatccatgt gaccaaggta gaagaacgtc taactacat 2280  
ctgccagcgg gaaaactcat tttatgtgga cacagtgcgg gccttcagag acaggcgcta 2340  
tgagttcaaa ggactgcaca aggtgtggaa gaagaagctc tcggcagctg tagaggtggg 2400  
cgatgcatca gaggtgaagc gctgcaagaa catggagatc ctttacgatt cactgcagct 2460  
ggctcacaag tgcacctga actccttcta cggctatgtc atgcgcaaag gagctcgtg 2520  
gtattccatg gagatggctg gtatcgtctg ctttacagga gccaacatca tcaccaagc 2580  
aagagaactg attgagcaga tcgggaggcc tttagaattg gacacggacg gaatatgggtg 2640  
cgtcctaccc aatagctttc ctgaaaattt tgtcatcaag acaaccaatg cgaagaaacc 2700  
caaactgacc atctcctatc ctggtgccat gttgaacatc atggtcaagg aaggctttac 2760  
caaccaccag taccaggaac taacagagcc ttcgtctctc acctatgtca cccactctga 2820  
gaatagtatc ttttttgaag tcgatggacc ataccttgct atgaccttc cagcctccaa 2880  
ggaagaaggc aagaagctga agaaaagata tgctgtgttc aatgaagatg gttccttggc 2940  
tgaactgaaa ggttttgagg tgaaacgccg aggggagttg cagctgatta aaatattcca 3000  
gtcctcagtt tttgaggcct tcctcaaggg cagcacactg gaggaagtgt atggctcgg 3060

ggccaaagtg gctgactact ggctagatgt gctctatagc aaggctgcta atatgcccga 3120  
ttctgaattg tttgagctga tttctgagaa ccgctccatg tctcggaagc tggaagatta 3180  
cggggagcag aagtctacat ccatacagcac agcaaagcgc ctggctgagt tcctgggaga 3240  
ccagatggtc aaagatgctg gactgagctg ccgctatata atctcccgaa agccagaggg 3300  
gtctcctgtc actgagaggg ccattccact tgccattttc caagcagagc ctacagttag 3360  
gaaacatttt ctccggaaat ggctaaagag ttcatacatt caagactttg atattcggac 3420  
aattctggac tgggactact acatagagag gctggggagt gccatccaga aaatcatcac 3480  
catccccgca gctctgcagc aggtgaagaa cccagttcca cgtgtcaaac atccagactg 3540  
gctacacaaa aaactactag agaagaatga tatctacaaa cagaagaaga tcagttagct 3600  
ctttgtgctt gaaggaaaga gacagattgt gatggcccag gcttcagaaa acagtctgag 3660  
tctctgcact ccagacatgg aggacattgg actcaciaag ccacaccact ctacagtccc 3720  
agttgctact aagaggaagc gagtctggga gacccaaaag gagtctcagg atattgcact 3780  
aactgtgccc tggcaagagg tcttagggca gcctccctcc cttggaacca cacaggaaga 3840  
gtggttggtc tggctccagt tccacaagaa aaagtggcag ctgcaggccc aacagcgcct 3900  
agccctcagg aagaagcaac gcttagagtc agcagaagat atgccaaggc ttgggcctat 3960  
ccgagaggag ccttccacag gactggggag ctttttgcga aggactgccc gcagcatcat 4020  
ggaccttcca tggcagataa tacagatcag tgagaccaga caggctggtc tgttccggct 4080  
gtgggctatc attggcaatg acttgcactg catcaagctg agtatccctc gagtattcta 4140  
tgtaaaccag cgggttgcca aagcagagga tggacctgca tatcggaagg tgaatcgggg 4200  
gctcttcctt cgttccaaca ttgtctacaa tctctatgag tattcagtac cagaggacat 4260  
gtaccaagaa cacatcaacg agatcaacac tgagttgtca gtaccagaca ttgagggcgt 4320  
gtatgagaca caggctccat tgttattccg ggccctcgtg cagctgggct gtgtgtgtgt 4380  
ggtaacaag cagctgacaa ggcacctttc gggctgggaa gctgaaactt ttgccctcga 4440  
gcaccttgaa atgcgtttctc tggcccagtt cagctacttg gaaccaggga gtatccgcca 4500  
tatctacctg taccatcaca ctcagggccca caaggcactc tttggggctt ttatccctc 4560  
acagcgaaga gcatctgtgt ttgtgttgga tactgtacga agcaacaaa tgccagggct 4620  
cagtgccttg tactcatcag aacacagcct gctgctggac aaggctggacc ccaagctcct 4680  
gcctccccca aaacacacct ttgaagtctg tgctgaaacc aacctggaga ctatctgcag 4740  
agccatccag cgcttctctg ttgcctacaa ggaagagcgc cgagggccca cactcatcgc 4800

tgtccagtct agctgggagc tgtgtaggct gaccagttag attccagtct tagaagagtt 4860  
cccactagtg cctatccgag tggctgacaa gatcagctat gcagtcctag actggcagcg 4920  
ccatggagct cgccgaatga tccggcacta cctcaattta gacttgtgcc tgtcgcaggc 4980  
ctttgagatg agcaggtact tccacatccc tgttggaaac ctgccggaag acatctccat 5040  
ctttggctca gaccttttt ttgcacgcca cctccagcac cataaccacc tgctttggct 5100  
atcccctacc tctcggcctg acctgggtgg gaaggaagct gatgacaacc gccttgtcat 5160  
ggagtttcat gaccgagcca ctgtggagat caatagtctt ggctgttact ctactgtgtg 5220  
cgtggaactg gacattcaaa atctggcagt caacaccatc ctccagtccc atcatgtcaa 5280  
tgacatggag ggggctggca gcatgggcat cagcttcgat gtgatccagc aggccctcct 5340  
agaggacatg gtaacaggca atcaagctgc cagtgccctg gccaaactacg atgagacagc 5400  
cctctgctct agtaccttca ggatcctgaa gagcatggtg gttggctggg taaaggaaat 5460  
cacacagtac cacaacatct atgctgacaa ccaggtaatg cacttctacc gctggctcca 5520  
gtcaccgtgc tctctgctcc acgaccagc ccttcaccgg acgtgcaca atatgatgaa 5580  
gaagctcttc ctgcagctca ttgctgagtt caagcgcctg gggatcatcag tcgtctatgc 5640  
caacttcaat cgcacatctc tctgtacaaa gaagcgccga atagaggatg cccttgcccta 5700  
tgtggaatat attaccaaca gcatccattc taaagagatc ttccattccc tgaccatctc 5760  
tttctctcga tgctgggaat tccttctctg gatggatcca tccaactatg gtggaatcaa 5820  
aggaaaagtt ccatctagta ttactgtgg acaggtaaaa gagcaagact cccaggcaag 5880  
agaggaaact gatgaagagg aggaggacaa ggaaaaggac gaggaggaag agggcatggg 5940  
agagtccgag gttgaggact tactggagaa caactggaac attctacagt tcttgcccca 6000  
ggcagcctct tgccagagct acttctcat gattgtttca gcatacatcg tagctgtgta 6060  
ccaaagcatg aaggaggagt tgagacacag tgccccgggc agtaccctg tgaagaggaa 6120  
gggggcccagc cagttctccc aggagtctga aggggcaact ggatctcttc ctggaatgat 6180  
cactttctct caagattatg tggcaaatga gctcactcag agcttcttca ccattactca 6240  
gaaaattcag aagaaagtca caggttctcg gaacaccact gagccctcag agatgttccc 6300  
cgtcctccct gggtcacact tgctgctcaa taatcctgct ctggagtcca tcaaataatgt 6360  
gtgcaaggta ctatctcagg atacaaacat cacaaatcag gtgaataagc tgaacagaga 6420  
ccttcttcgc ctggtagacg ttggtgaatt ctctgaggag gccagttca gagaccctg 6480  
ccactcctac gtgctccctg aggtaatctg ccacagctgt aatttctgcc gagacctgga 6540

cctgtgcaaa gattcctctt tctctcagga tggagccatc ctgcctcagt ggctctgctc 6600  
 caattgtcaa gccccctatg actcctctgc cattgagtca gccttggtgg aagccctgca 6660  
 gaggaaactg atggccttca cacttcagga cctggtatgc ctcaagtgcc gtggtatgaa 6720  
 agagacccat atgcctgtgt actgcagctg cgcaggggac tttactctca ccatccgcac 6780  
 tgaggtcttc atggaacaga ttagaatctt ccagaacatt gccaaagtact acagcatgtc 6840  
 atatctccag gagaccatag aatggctgtt acagacaagc cctgtatcaa actgttagca 6900  
 agcctaggct aaagacactt tggtatccca cacctactgc ctgctccaaa aggcagaacc 6960  
 actgaccacc ttgcttttcc aaactcatga gcacagccca gaaggaacag aagacttctg 7020  
 ctaacgtcat catgccataa acagacagaa gcagggaatg gctctatccc tagctgcctg 7080  
 ctaagtaaac acggttttga agcgtctgaa aaaaaaaaaa 7119

<210> 58

<211> 2284

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 58

Met Val Leu Arg Asn Ser Gly Arg Arg His Pro Glu Pro Gly Ala Asp

1 5 10 15

Gly Glu Gly Ser Arg Asp Asp Gly Pro Ser Ser Ser Val Ser Ala Leu

20 25 30

Lys Arg Leu Glu Arg Ser Gln Trp Thr Asp Lys Met Asp Leu Arg Phe

35 40 45

Gly Phe Glu Arg Leu Lys Glu Pro Gly Glu Arg Thr Gly Trp Leu Ile

50 55 60

Asn Met His Pro Thr Glu Ile Leu Asp Glu Asp Lys Arg Leu Val Ser  
65 70 75 80

Ala Val Asp Tyr Tyr Phe Ile Gln Asp Asp Gly Ser Arg Phe Lys Val  
85 90 95

Ala Leu Pro Tyr Met Pro Tyr Phe Tyr Ile Ala Ala Arg Lys Gly Cys  
100 105 110

Asp Arg Glu Val Ser Ser Phe Leu Ser Lys Lys Phe Gln Gly Lys Ile  
115 120 125

Ala Lys Leu Glu Asn Val Pro Lys Glu Asp Leu Asp Leu Pro Asn His  
130 135 140

Leu Val Gly Leu Lys Arg Ser Tyr Ile Lys Leu Ser Phe His Thr Val  
145 150 155 160

Glu Asp Leu Val Lys Val Arg Lys Glu Ile Ser Pro Ala Val Lys Lys  
165 170 175

Asn Arg Glu Gln Asp His Ala Ser Asp Glu Tyr Thr Thr Met Leu Ser  
180 185 190

Ser Ile Leu Gln Gly Gly Ser Val Ile Thr Asp Glu Glu Glu Thr Ser  
195 200 205

Lys Lys Ile Ala Asp Gln Leu Asp Asn Ile Val Asp Met Arg Glu Tyr

210

215

220

Asp Val Pro Tyr His Ile Arg Leu Ser Ile Asp Leu Arg Ile His Val

225

230

235

240

Ala His Trp Tyr Asn Val Arg Phe Arg Gly Asn Ala Phe Pro Val Glu

245

250

255

Ile Thr Arg Arg Asp Asp Leu Val Glu Arg Pro Asp Pro Val Val Leu

260

265

270

Ala Phe Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro Leu Lys Phe Pro Asp Ala

275

280

285

Glu Thr Asp Gln Ile Met Met Ile Ser Tyr Met Ile Asp Gly Gln Gly

290

295

300

Tyr Leu Ile Thr Asn Arg Glu Ile Val Ser Glu Asp Ile Glu Asp Phe

305

310

315

320

Glu Phe Thr Pro Lys Pro Glu Tyr Glu Gly Pro Phe Cys Val Phe Asn

325

330

335

Glu Pro Asp Glu Val His Leu Ile Gln Arg Trp Phe Glu His Ile Gln

340

345

350

Glu Thr Lys Pro Thr Ile Met Val Thr Tyr Asn Gly Asp Phe Phe Asp

355

360

365

Trp Pro Phe Val Glu Ala Arg Ala Ala Ile His Gly Leu Ser Met Tyr  
370 375 380

Gln Glu Ile Gly Phe Gln Lys Asp Ser Gln Gly Glu Tyr Lys Ala Pro  
385 390 395 400

Gln Cys Ile His Met Asp Cys Leu Arg Trp Val Lys Arg Asp Ser Tyr  
405 410 415

Leu Pro Val Gly Ser His Asn Leu Lys Ala Ala Ala Lys Ala Lys Leu  
420 425 430

Gly Tyr Asp Pro Val Glu Leu Asp Pro Glu Asp Met Cys Arg Met Ala  
435 440 445

Thr Glu Gln Pro Gln Thr Leu Ala Thr Tyr Ser Val Ser Asp Ala Val  
450 455 460

Ala Thr Tyr Tyr Leu Tyr Met Lys Tyr Val His Pro Phe Ile Phe Ala  
465 470 475 480

Leu Cys Thr Ile Ile Pro Met Glu Pro Asp Glu Val Leu Arg Lys Gly  
485 490 495

Ser Gly Thr Leu Cys Glu Ala Leu Leu Met Val Gln Ala Phe His Ala  
500 505 510

Asn Ile Ile Phe Pro Asn Lys Gln Glu Gln Glu Phe Asn Lys Leu Thr  
515 520 525



Asp Asp Gly His Val Leu Asp Ala Glu Thr Tyr Val Gly Gly His Val  
530 535 540

Glu Ala Leu Glu Ser Gly Val Phe Arg Ser Asp Ile Pro Cys Arg Phe  
545 550 555 560

Arg Met Asn Pro Ala Ala Phe Asp Phe Leu Leu Gln Arg Val Glu Lys  
565 570 575

Thr Met Arg His Ala Ile Glu Glu Glu Glu Lys Val Pro Val Glu Gln  
580 585 590

Ala Thr Asn Phe Gln Glu Val Cys Glu Gln Ile Lys Thr Lys Leu Thr  
595 600 605

Ser Leu Lys Asp Val Pro Asn Arg Ile Glu Cys Pro Leu Ile Tyr His  
610 615 620

Leu Asp Val Gly Ala Met Tyr Pro Asn Ile Ile Leu Thr Asn Arg Leu  
625 630 635 640

Gln Pro Ser Ala Ile Val Asp Glu Ala Thr Cys Ala Ala Cys Asp Phe  
645 650 655

Asn Lys Pro Gly Ala Ser Cys Gln Arg Lys Met Ala Trp Gln Trp Arg  
660 665 670

Gly Glu Phe Met Pro Ala Ser Arg Ser Glu Tyr His Arg Ile Gln His

675

680

685

Gln Leu Glu Ser Glu Lys Phe Pro Pro Leu Phe Pro Glu Gly Pro Ala

690

695

700

Arg Ala Phe His Glu Leu Ser Arg Glu Glu Gln Ala Lys Tyr Glu Lys

705

710

715

720

Arg Arg Leu Ala Asp Tyr Cys Arg Lys Ala Tyr Lys Lys Ile His Val

725

730

735

Thr Lys Val Glu Glu Arg Leu Thr Thr Ile Cys Gln Arg Glu Asn Ser

740

745

750

Phe Tyr Val Asp Thr Val Arg Ala Phe Arg Asp Arg Arg Tyr Glu Phe

755

760

765

Lys Gly Leu His Lys Val Trp Lys Lys Lys Leu Ser Ala Ala Val Glu

770

775

780

Val Gly Asp Ala Ser Glu Val Lys Arg Cys Lys Asn Met Glu Ile Leu

785

790

795

800

Tyr Asp Ser Leu Gln Leu Ala His Lys Cys Ile Leu Asn Ser Phe Tyr

805

810

815

Gly Tyr Val Met Arg Lys Gly Ala Arg Trp Tyr Ser Met Glu Met Ala

820

825

830

Gly Ile Val Cys Phe Thr Gly Ala Asn Ile Ile Thr Gln Ala Arg Glu  
835 840 845

Leu Ile Glu Gln Ile Gly Arg Pro Leu Glu Leu Asp Thr Asp Gly Ile  
850 855 860

Trp Cys Val Leu Pro Asn Ser Phe Pro Glu Asn Phe Val Ile Lys Thr  
865 870 875 880

Thr Asn Ala Lys Lys Pro Lys Leu Thr Ile Ser Tyr Pro Gly Ala Met  
885 890 895

Leu Asn Ile Met Val Lys Glu Gly Phe Thr Asn His Gln Tyr Gln Glu  
900 905 910

Leu Thr Glu Pro Ser Ser Leu Thr Tyr Val Thr His Ser Glu Asn Ser  
915 920 925

Ile Phe Phe Glu Val Asp Gly Pro Tyr Leu Ala Met Ile Leu Pro Ala  
930 935 940

Ser Lys Glu Glu Gly Lys Lys Leu Lys Lys Arg Tyr Ala Val Phe Asn  
945 950 955 960

Glu Asp Gly Ser Leu Ala Glu Leu Lys Gly Phe Glu Val Lys Arg Arg  
965 970 975

Gly Glu Leu Gln Leu Ile Lys Ile Phe Gln Ser Ser Val Phe Glu Ala  
980 985 990

Phe Leu Lys Gly Ser Thr Leu Glu Glu Val Tyr Gly Ser Val Ala Lys  
995 1000 1005

Val Ala Asp Tyr Trp Leu Asp Val Leu Tyr Ser Lys Ala Ala Asn Met  
1010 1015 1020

Pro Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Ile Ser Glu Asn Arg Ser Met Ser  
1025 1030 1035 1040

Arg Lys Leu Glu Asp Tyr Gly Glu Gln Lys Ser Thr Ser Ile Ser Thr  
1045 1050 1055

Ala Lys Arg Leu Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gln Met Val Lys Asp Ala  
1060 1065 1070

Gly Leu Ser Cys Arg Tyr Ile Ile Ser Arg Lys Pro Glu Gly Ser Pro  
1075 1080 1085

Val Thr Glu Arg Ala Ile Pro Leu Ala Ile Phe Gln Ala Glu Pro Thr  
1090 1095 1100

Val Arg Lys His Phe Leu Arg Lys Trp Leu Lys Ser Ser Ser Leu Gln  
1105 1110 1115 1120

Asp Phe Asp Ile Arg Thr Ile Leu Asp Trp Asp Tyr Tyr Ile Glu Arg  
1125 1130 1135

Leu Gly Ser Ala Ile Gln Lys Ile Ile Thr Ile Pro Ala Ala Leu Gln

1140	1145	1150
Gln Val Lys Asn Pro Val Pro Arg Val Lys His Pro Asp Trp Leu His		
1155	1160	1165
Lys Lys Leu Leu Glu Lys Asn Asp Ile Tyr Lys Gln Lys Lys Ile Ser		
1170	1175	1180
Glu Leu Phe Val Leu Glu Gly Lys Arg Gln Ile Val Met Ala Gln Ala		
1185	1190	1195
		1200
Ser Glu Asn Ser Leu Ser Leu Cys Thr Pro Asp Met Glu Asp Ile Gly		
1205	1210	1215
Leu Thr Lys Pro His His Ser Thr Val Pro Val Ala Thr Lys Arg Lys		
1220	1225	1230
Arg Val Trp Glu Thr Gln Lys Glu Ser Gln Asp Ile Ala Leu Thr Val		
1235	1240	1245
Pro Trp Gln Glu Val Leu Gly Gln Pro Pro Ser Leu Gly Thr Thr Gln		
1250	1255	1260
Glu Glu Trp Leu Val Trp Leu Gln Phe His Lys Lys Lys Trp Gln Leu		
1265	1270	1275
		1280
Gln Ala Gln Gln Arg Leu Ala Leu Arg Lys Lys Gln Arg Leu Glu Ser		
1285	1290	1295

Ala Glu Asp Met Pro Arg Leu Gly Pro Ile Arg Glu Glu Pro Ser Thr  
1300 1305 1310

Gly Leu Gly Ser Phe Leu Arg Arg Thr Ala Arg Ser Ile Met Asp Leu  
1315 1320 1325

Pro Trp Gln Ile Ile Gln Ile Ser Glu Thr Arg Gln Ala Gly Leu Phe  
1330 1335 1340

Arg Leu Trp Ala Ile Ile Gly Asn Asp Leu His Cys Ile Lys Leu Ser  
1345 1350 1355 1360

Ile Pro Arg Val Phe Tyr Val Asn Gln Arg Val Ala Lys Ala Glu Asp  
1365 1370 1375

Gly Pro Ala Tyr Arg Lys Val Asn Arg Gly Leu Phe Leu Arg Ser Asn  
1380 1385 1390

Ile Val Tyr Asn Leu Tyr Glu Tyr Ser Val Pro Glu Asp Met Tyr Gln  
1395 1400 1405

Glu His Ile Asn Glu Ile Asn Thr Glu Leu Ser Val Pro Asp Ile Glu  
1410 1415 1420

Gly Val Tyr Glu Thr Gln Val Pro Leu Leu Phe Arg Ala Leu Val Gln  
1425 1430 1435 1440

Leu Gly Cys Val Cys Val Val Asn Lys Gln Leu Thr Arg His Leu Ser  
1445 1450 1455

Gly Trp Glu Ala Glu Thr Phe Ala Leu Glu His Leu Glu Met Arg Ser  
1460 1465 1470

Leu Ala Gln Phe Ser Tyr Leu Glu Pro Gly Ser Ile Arg His Ile Tyr  
1475 1480 1485

Leu Tyr His His Thr Gln Gly His Lys Ala Leu Phe Gly Val Phe Ile  
1490 1495 1500

Pro Ser Gln Arg Arg Ala Ser Val Phe Val Leu Asp Thr Val Arg Ser  
1505 1510 1515 1520

Asn Gln Met Pro Gly Leu Ser Ala Leu Tyr Ser Ser Glu His Ser Leu  
1525 1530 1535

Leu Leu Asp Lys Val Asp Pro Lys Leu Leu Pro Pro Pro Lys His Thr  
1540 1545 1550

Phe Glu Val Arg Ala Glu Thr Asn Leu Glu Thr Ile Cys Arg Ala Ile  
1555 1560 1565

Gln Arg Phe Leu Leu Ala Tyr Lys Glu Glu Arg Arg Gly Pro Thr Leu  
1570 1575 1580

Ile Ala Val Gln Ser Ser Trp Glu Leu Cys Arg Leu Thr Ser Glu Ile  
1585 1590 1595 1600

Pro Val Leu Glu Glu Phe Pro Leu Val Pro Ile Arg Val Ala Asp Lys

1605

1610

1615

Ile Ser Tyr Ala Val Leu Asp Trp Gln Arg His Gly Ala Arg Arg Met

1620

1625

1630

Ile Arg His Tyr Leu Asn Leu Asp Leu Cys Leu Ser Gln Ala Phe Glu

1635

1640

1645

Met Ser Arg Tyr Phe His Ile Pro Val Gly Asn Leu Pro Glu Asp Ile

1650

1655

1660

Ser Ile Phe Gly Ser Asp Leu Phe Phe Ala Arg His Leu Gln His His

1665

1670

1675

1680

Asn His Leu Leu Trp Leu Ser Pro Thr Ser Arg Pro Asp Leu Gly Gly

1685

1690

1695

Lys Glu Ala Asp Asp Asn Arg Leu Val Met Glu Phe Asp Asp Arg Ala

1700

1705

1710

Thr Val Glu Ile Asn Ser Ser Gly Cys Tyr Ser Thr Val Cys Val Glu

1715

1720

1725

Leu Asp Ile Gln Asn Leu Ala Val Asn Thr Ile Leu Gln Ser His His

1730

1735

1740

Val Asn Asp Met Glu Gly Ala Gly Ser Met Gly Ile Ser Phe Asp Val

1745

1750

1755

1760



Ile Gln Gln Ala Ser Leu Glu Asp Met Val Thr Gly Asn Gln Ala Ala  
1765 1770 1775

Ser Ala Leu Ala Asn Tyr Asp Glu Thr Ala Leu Cys Ser Ser Thr Phe  
1780 1785 1790

Arg Ile Leu Lys Ser Met Val Val Gly Trp Val Lys Glu Ile Thr Gln  
1795 1800 1805

Tyr His Asn Ile Tyr Ala Asp Asn Gln Val Met His Phe Tyr Arg Trp  
1810 1815 1820

Leu Gln Ser Pro Cys Ser Leu Leu His Asp Pro Ala Leu His Arg Thr  
1825 1830 1835 1840

Leu His Asn Met Met Lys Lys Leu Phe Leu Gln Leu Ile Ala Glu Phe  
1845 1850 1855

Lys Arg Leu Gly Ser Ser Val Val Tyr Ala Asn Phe Asn Arg Ile Ile  
1860 1865 1870

Leu Cys Thr Lys Lys Arg Arg Ile Glu Asp Ala Leu Ala Tyr Val Glu  
1875 1880 1885

Tyr Ile Thr Asn Ser Ile His Ser Lys Glu Ile Phe His Ser Leu Thr  
1890 1895 1900

Ile Ser Phe Ser Arg Cys Trp Glu Phe Leu Leu Trp Met Asp Pro Ser  
1905 1910 1915 1920

Asn Tyr Gly Gly Ile Lys Gly Lys Val Pro Ser Ser Ile His Cys Gly  
1925 1930 1935

Gln Val Lys Glu Gln Asp Ser Gln Ala Arg Glu Glu Thr Asp Glu Glu  
1940 1945 1950

Glu Glu Asp Lys Glu Lys Asp Glu Glu Glu Glu Gly Met Gly Glu Ser  
1955 1960 1965

Glu Val Glu Asp Leu Leu Glu Asn Asn Trp Asn Ile Leu Gln Phe Leu  
1970 1975 1980

Pro Gln Ala Ala Ser Cys Gln Ser Tyr Phe Leu Met Ile Val Ser Ala  
1985 1990 1995 2000

Tyr Ile Val Ala Val Tyr Gln Ser Met Lys Glu Glu Leu Arg His Ser  
2005 2010 2015

Ala Pro Gly Ser Thr Pro Val Lys Arg Lys Gly Ala Ser Gln Phe Ser  
2020 2025 2030

Gln Glu Ser Glu Gly Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Met Ile Thr Phe  
2035 2040 2045

Ser Gln Asp Tyr Val Ala Asn Glu Leu Thr Gln Ser Phe Phe Thr Ile  
2050 2055 2060

Thr Gln Lys Ile Gln Lys Lys Val Thr Gly Ser Arg Asn Thr Thr Glu

2065	2070	2075	2080
Pro Ser Glu Met Phe Pro Val Leu Pro Gly Ser His Leu Leu Leu Asn			
2085	2090	2095	
Asn Pro Ala Leu Glu Phe Ile Lys Tyr Val Cys Lys Val Leu Ser Gln			
2100	2105	2110	
Asp Thr Asn Ile Thr Asn Gln Val Asn Lys Leu Asn Arg Asp Leu Leu			
2115	2120	2125	
Arg Leu Val Asp Val Gly Glu Phe Ser Glu Glu Ala Gln Phe Arg Asp			
2130	2135	2140	
Pro Cys His Ser Tyr Val Leu Pro Glu Val Ile Cys His Ser Cys Asn			
2145	2150	2155	2160
Phe Cys Arg Asp Leu Asp Leu Cys Lys Asp Ser Ser Phe Ser Gln Asp			
2165	2170	2175	
Gly Ala Ile Leu Pro Gln Trp Leu Cys Ser Asn Cys Gln Ala Pro Tyr			
2180	2185	2190	
Asp Ser Ser Ala Ile Glu Ser Ala Leu Val Glu Ala Leu Gln Arg Lys			
2195	2200	2205	
Leu Met Ala Phe Thr Leu Gln Asp Leu Val Cys Leu Lys Cys Arg Gly			
2210	2215	2220	

Met Lys Glu Thr His Met Pro Val Tyr Cys Ser Cys Ala Gly Asp Phe  
 2225                      2230                      2235                      2240

Thr Leu Thr Ile Arg Thr Glu Val Phe Met Glu Gln Ile Arg Ile Phe  
                     2245                      2250                      2255

Gln Asn Ile Ala Lys Tyr Tyr Ser Met Ser Tyr Leu Gln Glu Thr Ile  
                     2260                      2265                      2270

Glu Trp Leu Leu Gln Thr Ser Pro Val Ser Asn Cys  
                     2275                      2280

<210> 59

<211> 3325

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 59

aggc gatgga tggtaa acgg cggca agcgc ccagct ctgg ggtg ccccca aagcgggctt 60  
 gcaagggcct ctgggatgaa gatgagccgt cacagtttga ggagaacctg gcgctgctgg 120  
 aggagataga ggccgagaat cggctgcagg aggccgagga ggagctgcag ctgccccctg 180  
 agggcattgt ggggtgggcag ttttccactg cagacattga cccacggtgg ctgcggccca 240  
 cccacttgc cctggacccc agcacggagc cctcatctt ccagcagctg gagattgacc 300  
 actatgtggg cacatcacct cccctgccag aaggaccccc cgcattctgt aactcagtgc 360  
 ccatactgag ggcctttggg gtcaccgatg agggcttctc cgtctgctgc cacatccacg 420  
 gctttgcccc ctacttctac acccctgcac ctccgggttt tggggctgag cacctgagtg 480  
 aactacagcg ggagctgaat gcagccatca gccgggacca gcgtggtgga aaggagctct 540  
 cggggccggc agtgctagct atagagctgt gctcccgtga gagcatgttt gggtaccatg 600

gccacggccc ttctcccttt ctccgcatca ccctggcact accccgcctg atggcgccag 660  
cccgccgcct cctggaacag ggtatccgag tgccaggcct gggcaccccg agctttgcac 720  
cctatgaagc caatgtggac tttagatcc ggttcattgt ggatgctgac attgtgggat 780  
gcaactggtt ggagctccca gctggaaagt acgttcggag ggcagagaag aaggctacac 840  
tgtgtcagct ggaggtggat gtgctgttgt cagacgtgat cagtcacca ccagaagggc 900  
agtggcagcg catcgacccc ctgcgtgtgc ttagcttcga catcgagtgc gctggccgaa 960  
aaggcatctt ccctgagcct gagcgtgacc ccgtgatcca gatctgttct ctggggctgc 1020  
gctggggtga gccagagccc ttcttgcgcc tagcactcac gctgcggcct tgcgccccca 1080  
tcctgggtgc caaagtacag agctatgaac gggaagaaga cctgctccag gcctgggcca 1140  
ctttcatcct cgccatggac cctgacgtga tcaccggcta caacattcag aactttgacc 1200  
tcccctacct catctctcgg gcacaaacct taaaggtgga ccgattccct ttcctgggcc 1260  
gtgtgactgg tctccgctcc aacatccgtg actcctcctt ccaatcaagg caggtgggcc 1320  
ggcgggacag taaggtggtc agcatggtgg gtcgcgttca gatggatatg ctgcaggtgc 1380  
tgcttcggga gtacaagctc cgctcctaca cgctcaacgc tgtgagcttc cacttcttgg 1440  
gtgagcagaa ggaggacgta cagcacagca tcatcactga cctacagaat gggaatgaac 1500  
agacgcgtcg ccgcctggcc gtgtactgcc tgaaggatgc ctttctgcct cttcgcctac 1560  
tcgagcgctt tatggtgctg gtgaacaatg tggagatggc gcgtgtcact ggtgtacccc 1620  
ttgggtacct gctcagccga ggccagcagg tcaaggctgt gtctcagctg ctgcgccagg 1680  
ccatgcgcga ggggctgctg atgcctgtgg tgaagacgga gggaggtgag gactacacgg 1740  
gagccactgt cattgagccc ctcaaagggt actatgatgt cccattgcc accctggact 1800  
tctcctctct gtacccatcc atcatgatgg ccacaaatct gtgctacacc acattgctac 1860  
ggcctggggc tgcccagaag ttgggcctta aaccagatga gttcatcaag acaccactg 1920  
gggatgagtt tgtgaaggca tctgtgcgga agggcctcct gcccacaaatc ctggagaatc 1980  
tgctgagtgc ccggaagagg gccaaggctg agctggctca ggagacggac cccctgcggc 2040  
gacaggtctt ggatggacgg cagctggcac taaaagttag tccaactct gtgtatggct 2100  
tactggtgc ccaggtgggc aagctgccgt gtttggagat ctcccagagt gtcactgggt 2160  
tcgggaggca gatgattgag aaaaccaagc agctagtgga gaccaagtac actctggaaa 2220  
atggctacga tgctaattgcc aaggtggtct acggtgacac tgactctgtg atgtgccgat 2280  
ttggtgtctc ctctgtggct gaggcaatgt ctctggggcg ggaggctgca aactgggtat 2340

ccagtcactt cccatcaccc atccggctgg agttcgagaa ggtttacttt ccctacctgc 2400  
 tcatcagcaa gaagcgctat gccggcctac tcttctctc ccgctctgat gcccattgaca 2460  
 gaatggactg caagggcctg gaggctgtgc gtagggacaa ctgtcccctg gtggccaacc 2520  
 ttgtcacatc ctctctgcgc agaatcctcg tggatcgga ccctgatggt gcagtagccc 2580  
 atgcaaagga tgtcatctcg gacctgtgt gcaaccgcat agacatctcc caactggtca 2640  
 tcaccaaaga gttgaccgc gcagcagcag actacgcggg caagcaggct catgtggagc 2700  
 tggctgagag gatgaggaag cgtgaccccg gcagtgcgc caacttgggc gaccgagtac 2760  
 cctacgtgat cattggtgct gccaaagggtg tggccgccta catgaagtcg gaggaccccc 2820  
 tgtttgtgct ggagcacagc ctgcccattg atactcagta ctacctggag cagcagctgg 2880  
 ccaagccgct attgcgcac tttgagccca ttctgggtga gggccgcgcg gagtcaagtgc 2940  
 tgctgcgcgg tgaccacaca cgctgcaaaa ccgtgctcac cagcaagggtg ggcggccttc 3000  
 tggccttcac caagcgccga aactcttgta ttggctgccg ctccgtaatc gaccatcaag 3060  
 gagccgtgtg taagttctgt cagccacggg agtctgagct ctatcagaag gaggtgtcac 3120  
 acctgaatgc cctggaggaa cgtttctcgc gcctctggac acagtgccag cgctgccagg 3180  
 gcagcttgca cgaggatgtc atctgtacca gccgcgactg tccatcttc tacatgcgca 3240  
 agaagggtgcg caaggacctg gaggaccagg aacggctgct gcagcgcttt ggacctcctg 3300  
 gccctgagggc ctggtgacct gacaa 3325

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 1103

&lt;212&gt; PRT

<213> *Rattus norvegicus*

&lt;400&gt; 60

Met Asp Gly Lys Arg Arg Gln Ala Pro Ser Ser Gly Val Pro Pro Lys

1

5

10

15

Arg Ala Cys Lys Gly Leu Trp Asp Glu Asp Glu Pro Ser Gln Phe Glu

20	25	30
Glu Asn Leu Ala Leu Leu Glu Glu Ile Glu Ala Glu Asn Arg Leu Gln		
35	40	45
Glu Ala Glu Glu Glu Leu Gln Leu Pro Pro Glu Gly Ile Val Gly Gly		
50	55	60
Gln Phe Ser Thr Ala Asp Ile Asp Pro Arg Trp Leu Arg Pro Thr Pro		
65	70	75
Leu Ala Leu Asp Pro Ser Thr Glu Pro Leu Ile Phe Gln Gln Leu Glu		
85	90	95
Ile Asp His Tyr Val Gly Thr Ser Pro Pro Leu Pro Glu Gly Pro Pro		
100	105	110
Ala Ser Arg Asn Ser Val Pro Ile Leu Arg Ala Phe Gly Val Thr Asp		
115	120	125
Glu Gly Phe Ser Val Cys Cys His Ile His Gly Phe Ala Pro Tyr Phe		
130	135	140
Tyr Thr Pro Ala Pro Pro Gly Phe Gly Ala Glu His Leu Ser Glu Leu		
145	150	155
Gln Arg Glu Leu Asn Ala Ala Ile Ser Arg Asp Gln Arg Gly Gly Lys		
165	170	175

Glu Leu Ser Gly Pro Ala Val Leu Ala Ile Glu Leu Cys Ser Arg Glu  
180 185 190

Ser Met Phe Gly Tyr His Gly His Gly Pro Ser Pro Phe Leu Arg Ile  
195 200 205

Thr Leu Ala Leu Pro Arg Leu Met Ala Pro Ala Arg Arg Leu Leu Glu  
210 215 220

Gln Gly Ile Arg Val Pro Gly Leu Gly Thr Pro Ser Phe Ala Pro Tyr  
225 230 235 240

Glu Ala Asn Val Asp Phe Glu Ile Arg Phe Met Val Asp Ala Asp Ile  
245 250 255

Val Gly Cys Asn Trp Leu Glu Leu Pro Ala Gly Lys Tyr Val Arg Arg  
260 265 270

Ala Glu Lys Lys Ala Thr Leu Cys Gln Leu Glu Val Asp Val Leu Trp  
275 280 285

Ser Asp Val Ile Ser His Pro Pro Glu Gly Gln Trp Gln Arg Ile Ala  
290 295 300

Pro Leu Arg Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly Arg Lys Gly  
305 310 315 320

Ile Phe Pro Glu Pro Glu Arg Asp Pro Val Ile Gln Ile Cys Ser Leu  
325 330 335



Gly Leu Arg Trp Gly Glu Pro Glu Pro Phe Leu Arg Leu Ala Leu Thr  
340 345 350

Leu Arg Pro Cys Ala Pro Ile Leu Gly Ala Lys Val Gln Ser Tyr Glu  
355 360 365

Arg Glu Glu Asp Leu Leu Gln Ala Trp Ala Thr Phe Ile Leu Ala Met  
370 375 380

Asp Pro Asp Val Ile Thr Gly Tyr Asn Ile Gln Asn Phe Asp Leu Pro  
385 390 395 400

Tyr Leu Ile Ser Arg Ala Gln Thr Leu Lys Val Asp Arg Phe Pro Phe  
405 410 415

Leu Gly Arg Val Thr Gly Leu Arg Ser Asn Ile Arg Asp Ser Ser Phe  
420 425 430

Gln Ser Arg Gln Val Gly Arg Arg Asp Ser Lys Val Val Ser Met Val  
435 440 445

Gly Arg Val Gln Met Asp Met Leu Gln Val Leu Leu Arg Glu Tyr Lys  
450 455 460

Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn Ala Val Ser Phe His Phe Leu Gly Glu  
465 470 475 480

Gln Lys Glu Asp Val Gln His Ser Ile Ile Thr Asp Leu Gln Asn Gly

485

490

495

Asn Glu Gln Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys Leu Lys Asp Ala

500

505

510

Phe Leu Pro Leu Arg Leu Leu Glu Arg Leu Met Val Leu Val Asn Asn

515

520

525

Val Glu Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Leu Gly Tyr Leu Leu Ser

530

535

540

Arg Gly Gln Gln Val Lys Val Val Ser Gln Leu Leu Arg Gln Ala Met

545

550

555

560

Arg Glu Gly Leu Leu Met Pro Val Val Lys Thr Glu Gly Gly Glu Asp

565

570

575

Tyr Thr Gly Ala Thr Val Ile Glu Pro Leu Lys Gly Tyr Tyr Asp Val

580

585

590

Pro Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ser Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Met Met

595

600

605

Ala His Asn Leu Cys Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Pro Gly Ala Ala Gln

610

615

620

Lys Leu Gly Leu Lys Pro Asp Glu Phe Ile Lys Thr Pro Thr Gly Asp

625

630

635

640

Glu Phe Val Lys Ala Ser Val Arg Lys Gly Leu Leu Pro Gln Ile Leu  
645 650 655

Glu Asn Leu Leu Ser Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala Glu Leu Ala Gln  
660 665 670

Glu Thr Asp Pro Leu Arg Arg Gln Val Leu Asp Gly Arg Gln Leu Ala  
675 680 685

Leu Lys Val Ser Pro Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Gln Val  
690 695 700

Gly Lys Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Gln Ser Val Thr Gly Phe Gly  
705 710 715 720

Arg Gln Met Ile Glu Lys Thr Lys Gln Leu Val Glu Thr Lys Tyr Thr  
725 730 735

Leu Glu Asn Gly Tyr Asp Ala Asn Ala Lys Val Val Tyr Gly Asp Thr  
740 745 750

Asp Ser Val Met Cys Arg Phe Gly Val Ser Ser Val Ala Glu Ala Met  
755 760 765

Ser Leu Gly Arg Glu Ala Ala Asn Trp Val Ser Ser His Phe Pro Ser  
770 775 780

Pro Ile Arg Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Phe Pro Tyr Leu Leu Ile  
785 790 795 800

Ser Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Phe Ser Ser Arg Ser Asp Ala  
805 810 815

His Asp Arg Met Asp Cys Lys Gly Leu Glu Ala Val Arg Arg Asp Asn  
820 825 830

Cys Pro Leu Val Ala Asn Leu Val Thr Ser Ser Leu Arg Arg Ile Leu  
835 840 845

Val Asp Arg Asp Pro Asp Gly Ala Val Ala His Ala Lys Asp Val Ile  
850 855 860

Ser Asp Leu Leu Cys Asn Arg Ile Asp Ile Ser Gln Leu Val Ile Thr  
865 870 875 880

Lys Glu Leu Thr Arg Ala Ala Ala Asp Tyr Ala Gly Lys Gln Ala His  
885 890 895

Val Glu Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Pro Gly Ser Ala Pro  
900 905 910

Asn Leu Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Gly Ala Ala Lys Gly  
915 920 925

Val Ala Ala Tyr Met Lys Ser Glu Asp Pro Leu Phe Val Leu Glu His  
930 935 940

Ser Leu Pro Ile Asp Thr Gln Tyr Tyr Leu Glu Gln Gln Leu Ala Lys

945	950	955	960
Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu Gly Glu Gly Arg Ala Glu			
	965	970	975
Ser Val Leu Leu Arg Gly Asp His Thr Arg Cys Lys Thr Val Leu Thr			
	980	985	990
Ser Lys Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe Thr Lys Arg Arg Asn Ser Cys			
	995	1000	1005
Ile Gly Cys Arg Ser Val Ile Asp His Gln Gly Ala Val Cys Lys Phe			
	1010	1015	1020
Cys Gln Pro Arg Glu Ser Glu Leu Tyr Gln Lys Glu Val Ser His Leu			
	1025	1030	1035
Asn Ala Leu Glu Glu Arg Phe Ser Arg Leu Trp Thr Gln Cys Gln Arg			
	1045	1050	1055
Cys Gln Gly Ser Leu His Glu Asp Val Ile Cys Thr Ser Arg Asp Cys			
	1060	1065	1070
Pro Ile Phe Tyr Met Arg Lys Lys Val Arg Lys Asp Leu Glu Asp Gln			
	1075	1080	1085
Glu Arg Leu Leu Gln Arg Phe Gly Pro Pro Gly Pro Glu Ala Trp			
	1090	1095	1100

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 3451

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Bos taurus

&lt;400&gt; 61

agtcaggggt cacggcggcg tgggctgtgg cgggaaacac tgtttgaagc gggatggatg 60  
gtaagcggcg accaggcccg gggcctgggg tgccccaaa gcgggcccgt gggggcctct 120  
gggatgagga tgaggcatac cggccctcgc agttcgagga ggagctggcg ctgatggagg 180  
agatggaagc agagcgcagg ctgcaggagc aggaggagga ggagctgcag tcggccctgg 240  
aggcggcgga cgggcaattc tccccaacgg ccatagatgc ccgtggctt cggcccgc 300  
cgcccgcctt ggacccccag atggagcctc tcattctcca gcagttggag atcgaccatt 360  
acgtggcccc agcgcggccc ctgcctgggg cgccccgcc atcccaggac tcagttcca 420  
tcctccgcgc cttcggggtc accaacgagg gggctctcgt ctgctgccac atccatggct 480  
ttgcacccta cttctacacc ccagcgcgcc ctggttttgg acctgagcac ctgagcgagc 540  
tgcagcggga gctgagtga gccatcagcc gggaccagcg cgggggcaag gagctcaccg 600  
ggccggccgt gctggcggtg gagctgtgct cccgggagag catgttcggg taccatgggc 660  
acggcccctc cccgtttctg cgtatcacct tggcactgcc ccgcctcatg gcacctgccc 720  
gccgcctcct ggagcagggc atccgcctgg ccggcctcgg cacccccage tttgcgcct 780  
acgaggccaa cgttgacttt gagatccggt tcatggtgga cacggacatc gtgggctgca 840  
actggctgga gctcccagcc gggaaataca tcctgaggcc ggaggggaag gccactctgt 900  
gtcagctgga ggccgacgtg ctgtggtcag acgtgatcag ccacccgccg gaaggagagt 960  
ggcagcgaat cgcccctctg cgcgtgctca gcttcgacat cgagtgcgct ggtcgcaaag 1020  
gcatcttccc tgagcccagc cgggacccc tgatccagat ctgctcactg ggcctgcgct 1080  
ggggcgagcc ggagcccttc ctgcgcctgg cgctcacct gcggccctgc gccccatcc 1140  
tgggcgccaa ggtgcagagc tatgagcggg aggaggacct gctccaggcc tggctgacct 1200  
tcatccgcat catggatccc gatgtgatca ccggctacaa tatccagaac ttgaccttc 1260  
cctacctcat ctcccgggcc cagaccctca aggtgccagg ctccccttg ctgggccgtg 1320

tgattggcct ccgctccaac atccgggagt cgtccttcca gtccaggcag actggccggc 1380  
gggacagcaa ggtggtcagc atggtgggcc gcgtgcagat ggacatgctg caggtgctgc 1440  
tgcgggagta caagctccgg tcctacacgc tcaatgccgt gagcttccac ttcttgggcg 1500  
agcagaagga ggacgtgcag cacagcatca tcacagacct gcagaacggt aacgaccaga 1560  
cgcgccggcg cctggccgtg tactgcctca aggacgcctt cctacccttg cggctgctgg 1620  
agcggctcat ggtgctggtg aacgccatgg agatggcgcg cgtcaccggc gtgcccctcg 1680  
gctacctgct cagcccgggc cagcaggtca aggtcgtgtc ccagctgctg cgacaggcca 1740  
tgcgccaggg gctgttgatg cccgtggtga agacggaggg tggtagggac tataccgggg 1800  
ccacggctcat cgagccgctg aaagggtact acgacgttcc catcgccacc ttggacttct 1860  
cctcgctgta cccgtccatc atgatggccc acaacctgtg ctacaccaca ctctgcggc 1920  
ccggggccgc ccagaaactg ggcctgaccg aggatcagtt catcaagacg cccacggggg 1980  
acgagtttgt gaaggcatcg gtgcggaagg ggctgctccc ccagatcctg gaaaacctgc 2040  
tcagcgcccg gaagaggggc aaggccgagc tggccaagga gacagacccc ctacggcggc 2100  
aagtgttggg cgggcgccag ctggcgctga aagtgagtgc taactctgtg tacggcttca 2160  
ctggcgccca ggtgggcagg ctcccgtgcc tggaaatctc acagagtgtc accgggttcg 2220  
ggcgccagat gattgagaag acaaagcagc ttgtggagac caagtacacg gtggaaaacg 2280  
gctacagcac cagcgccaag gtggtgtatg gtgacacaga ctcggtcatg tgccgctttg 2340  
gcgtctcatc cgtggctgag gcgatggctt tgggacggga ggctgcagac tgggtgtccg 2400  
gccattccc ctgcgccatc cggctagagt ttgagaaagt ctacttcccc tacctgctca 2460  
tcagcaagaa gcgttacgca ggcctgctct tctcctcccg gccggacgcc cagaccgca 2520  
tggactgcaa gggcctggag gccgtgcga gggacaactg ccccctggtg gccaacctcg 2580  
tcaccgcctc gctgcgccgc ctgctcatcg accgagaccc ctcgggcgcc gtggctcatg 2640  
cacaggacgt catctccgat ctgctgtgta atcgattga catctcgag ctggtcatta 2700  
ccaaggagct gactcgcgct gccgccgatt acgcgggcaa gcaggccac gtggagctgg 2760  
ccgagaggat gaggaagcgg gaccccgga gcgcgcccag cctgggcgac cgcgtcccct 2820  
acgtgatcat cagcgctgcc aaggcgctgg ccgcctacat gaagtccgag gacccctgt 2880  
tcgtactgga gcacagcctg cccatcgaca cgcagtacta cctggagcag cagctcgcca 2940  
agccgctcct gcgcatctc gagcccatcc tgggcgaggg ccgtgccgag gctgtgctgc 3000  
tgcgcgggga ccacactcgc tgcaagacgg tgctcacggg gaaggtgggc ggcctcctgg 3060

ccttcgccaa acgccggaac tgctgcatcg gctgccgcac tgtcctcagc caccagggag 3120  
 ccgtgtgcaa gttctgccag ccccgaggagt cagagctgta ccagaaggag gtgtcccacc 3180  
 tgagtgcctt ggaggagcga ttctcacgcc tgtggacgca gtgccagcgc tgccagggca 3240  
 gcctgcacga ggacgtcatc tgcaccagcc gggactgtcc catcttctac atgcgcaaga 3300  
 aggtgcggaa ggacctggag gaccaggagc ggctgctgcg gcgctttgga ccccccggcc 3360  
 cagaggcttg gtgacctctg acctcaacga acttcccacc ttgggggcgc gggggggaca 3420  
 gacggggaat taataaagct caggcctttt g 3451

<210> 62

<211> 1106

<212> PRT

<213> Bos taurus

<400> 62

Met Asp Gly Lys Arg Arg Pro Gly Pro Gly Pro Gly Val Pro Pro Lys

1

5

10

15

Arg Ala Arg Gly Gly Leu Trp Asp Glu Asp Glu Ala Tyr Arg Pro Ser

20

25

30

Gln Phe Glu Glu Glu Leu Ala Leu Met Glu Glu Met Glu Ala Glu Arg

35

40

45

Arg Leu Gln Glu Gln Glu Glu Glu Glu Leu Gln Ser Ala Leu Glu Ala

50

55

60

Ala Asp Gly Gln Phe Ser Pro Thr Ala Ile Asp Ala Arg Trp Leu Arg

65

70

75

80



Pro Ala Pro Pro Ala Leu Asp Pro Gln Met Glu Pro Leu Ile Phe Gln  
85 90 95

Gln Leu Glu Ile Asp His Tyr Val Ala Pro Ala Arg Pro Leu Pro Gly  
100 105 110

Ala Pro Pro Pro Ser Gln Asp Ser Val Pro Ile Leu Arg Ala Phe Gly  
115 120 125

Val Thr Asn Glu Gly Val Ser Val Cys Cys His Ile His Gly Phe Ala  
130 135 140

Pro Tyr Phe Tyr Thr Pro Ala Pro Pro Gly Phe Gly Pro Glu His Leu  
145 150 155 160

Ser Glu Leu Gln Arg Glu Leu Ser Ala Ala Ile Ser Arg Asp Gln Arg  
165 170 175

Gly Gly Lys Glu Leu Thr Gly Pro Ala Val Leu Ala Val Glu Leu Cys  
180 185 190

Ser Arg Glu Ser Met Phe Gly Tyr His Gly His Gly Pro Ser Pro Phe  
195 200 205

Leu Arg Ile Thr Leu Ala Leu Pro Arg Leu Met Ala Pro Ala Arg Arg  
210 215 220

Leu Leu Glu Gln Gly Ile Arg Leu Ala Gly Leu Gly Thr Pro Ser Phe

225	230	235	240
Ala Pro Tyr Glu Ala Asn Val Asp Phe Glu Ile Arg Phe Met Val Asp			
245	250	255	
Thr Asp Ile Val Gly Cys Asn Trp Leu Glu Leu Pro Ala Gly Lys Tyr			
260	265	270	
Ile Leu Arg Pro Glu Gly Lys Ala Thr Leu Cys Gln Leu Glu Ala Asp			
275	280	285	
Val Leu Trp Ser Asp Val Ile Ser His Pro Pro Glu Gly Glu Trp Gln			
290	295	300	
Arg Ile Ala Pro Leu Arg Val Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala Gly			
305	310	315	320
Arg Lys Gly Ile Phe Pro Glu Pro Glu Arg Asp Pro Val Ile Gln Ile			
325	330	335	
Cys Ser Leu Gly Leu Arg Trp Gly Glu Pro Glu Pro Phe Leu Arg Leu			
340	345	350	
Ala Leu Thr Leu Arg Pro Cys Ala Pro Ile Leu Gly Ala Lys Val Gln			
355	360	365	
Ser Tyr Glu Arg Glu Glu Asp Leu Leu Gln Ala Trp Ser Thr Phe Ile			
370	375	380	

Arg Ile Met Asp Pro Asp Val Ile Thr Gly Tyr Asn Ile Gln Asn Phe  
385 390 395 400

Asp Leu Pro Tyr Leu Ile Ser Arg Ala Gln Thr Leu Lys Val Pro Gly  
405 410 415

Phe Pro Leu Leu Gly Arg Val Ile Gly Leu Arg Ser Asn Ile Arg Glu  
420 425 430

Ser Ser Phe Gln Ser Arg Gln Thr Gly Arg Arg Asp Ser Lys Val Val  
435 440 445

Ser Met Val Gly Arg Val Gln Met Asp Met Leu Gln Val Leu Leu Arg  
450 455 460

Glu Tyr Lys Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn Ala Val Ser Phe His Phe  
465 470 475 480

Leu Gly Glu Gln Lys Glu Asp Val Gln His Ser Ile Ile Thr Asp Leu  
485 490 495

Gln Asn Gly Asn Asp Gln Thr Arg Arg Arg Leu Ala Val Tyr Cys Leu  
500 505 510

Lys Asp Ala Phe Leu Pro Leu Arg Leu Leu Glu Arg Leu Met Val Leu  
515 520 525

Val Asn Ala Met Glu Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Leu Gly Tyr  
530 535 540

Leu Leu Ser Arg Gly Gln Gln Val Lys Val Val Ser Gln Leu Leu Arg  
545 550 555 560

Gln Ala Met Arg Gln Gly Leu Leu Met Pro Val Val Lys Thr Glu Gly  
565 570 575

Gly Glu Asp Tyr Thr Gly Ala Thr Val Ile Glu Pro Leu Lys Gly Tyr  
580 585 590

Tyr Asp Val Pro Ile Ala Thr Leu Asp Phe Ser Ser Leu Tyr Pro Ser  
595 600 605

Ile Met Met Ala His Asn Leu Cys Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Pro Gly  
610 615 620

Ala Ala Gln Lys Leu Gly Leu Thr Glu Asp Gln Phe Ile Lys Thr Pro  
625 630 635 640

Thr Gly Asp Glu Phe Val Lys Ala Ser Val Arg Lys Gly Leu Leu Pro  
645 650 655

Gln Ile Leu Glu Asn Leu Leu Ser Ala Arg Lys Arg Ala Lys Ala Glu  
660 665 670

Leu Ala Lys Glu Thr Asp Pro Leu Arg Arg Gln Val Leu Asp Gly Arg  
675 680 685

Gln Leu Ala Leu Lys Val Ser Ala Asn Ser Val Tyr Gly Phe Thr Gly

690

695

700

Ala Gln Val Gly Arg Leu Pro Cys Leu Glu Ile Ser Gln Ser Val Thr

705

710

715

720

Gly Phe Gly Arg Gln Met Ile Glu Lys Thr Lys Gln Leu Val Glu Thr

725

730

735

Lys Tyr Thr Val Glu Asn Gly Tyr Ser Thr Ser Ala Lys Val Val Tyr

740

745

750

Gly Asp Thr Asp Ser Val Met Cys Arg Phe Gly Val Ser Ser Val Ala

755

760

765

Glu Ala Met Ala Leu Gly Arg Glu Ala Ala Asp Trp Val Ser Gly His

770

775

780

Phe Pro Ser Pro Ile Arg Leu Glu Phe Glu Lys Val Tyr Phe Pro Tyr

785

790

795

800

Leu Leu Ile Ser Lys Lys Arg Tyr Ala Gly Leu Leu Phe Ser Ser Arg

805

810

815

Pro Asp Ala His Asp Arg Met Asp Cys Lys Gly Leu Glu Ala Val Arg

820

825

830

Arg Asp Asn Cys Pro Leu Val Ala Asn Leu Val Thr Ala Ser Leu Arg

835

840

845

Arg Leu Leu Ile Asp Arg Asp Pro Ser Gly Ala Val Ala His Ala Gln  
850 855 860

Asp Val Ile Ser Asp Leu Leu Cys Asn Arg Ile Asp Ile Ser Gln Leu  
865 870 875 880

Val Ile Thr Lys Glu Leu Thr Arg Ala Ala Ala Asp Tyr Ala Gly Lys  
885 890 895

Gln Ala His Val Glu Leu Ala Glu Arg Met Arg Lys Arg Asp Pro Gly  
900 905 910

Ser Ala Pro Ser Leu Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile Ile Ser Ala  
915 920 925

Ala Lys Gly Val Ala Ala Tyr Met Lys Ser Glu Asp Pro Leu Phe Val  
930 935 940

Leu Glu His Ser Leu Pro Ile Asp Thr Gln Tyr Tyr Leu Glu Gln Gln  
945 950 955 960

Leu Ala Lys Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu Gly Glu Gly  
965 970 975

Arg Ala Glu Ala Val Leu Leu Arg Gly Asp His Thr Arg Cys Lys Thr  
980 985 990

Val Leu Thr Gly Lys Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe Ala Lys Arg Arg  
995 1000 1005

Asn Cys Cys Ile Gly Cys Arg Thr Val Leu Ser His Gln Gly Ala Val  
1010 1015 1020

Cys Lys Phe Cys Gln Pro Arg Glu Ser Glu Leu Tyr Gln Lys Glu Val  
1025 1030 1035 1040

Ser His Leu Ser Ala Leu Glu Glu Arg Phe Ser Arg Leu Trp Thr Gln  
1045 1050 1055

Cys Gln Arg Cys Gln Gly Ser Leu His Glu Asp Val Ile Cys Thr Ser  
1060 1065 1070

Arg Asp Cys Pro Ile Phe Tyr Met Arg Lys Lys Val Arg Lys Asp Leu  
1075 1080 1085

Glu Asp Gln Glu Arg Leu Leu Arg Arg Phe Gly Pro Pro Gly Pro Glu  
1090 1095 1100

Ala Trp  
1105

<210> 63

<211> 3457

<212> DNA

<213> *Drosophila melanogaster*

<400> 63

ctctaactg cctaccaaca aaagcgcgcc ttatTTTTTg gcatcgctct tgtcttatgg 60  
atttgcaagt aacatttcac caaggtaccc agaattgatg gcaagcgcaa gtttaattgga 120  
acctccaatg gacatgccaa gaagcccagg aatcctgatg acgatgagga aatgggcttt 180  
gaggcggagc tggccgcctt cgagaactcc gaggacatgg accagactct gctaattgggc 240  
gatggacccg agaaccaaac gaccagttag cgttgggtccc gtccgccgcc cccagaacta 300  
gatccctcca agcacaactt ggagtttcag cagctggacg tggaaaacta tttgggacag 360  
ccgttgccgg gaatgccagg tgcccaaata ggaccgtgc cgggtggtcg aatgtttgg 420  
gtcaccatgg agggtaactc tgtgtgctgc catgtgcatg gtttctgtcc atacttctac 480  
atagaggcgc ccagtcaatt cgaggagcac cattgcgaga aactacaaaa agccttggat 540  
caaaaggtta ttgccgatat tcgcaacaac aaagataatg tccaggaggc tgtgcttatg 600  
gtggaactgg tggagaagct gaacatccat ggatacaatg gagacaagaa gcagaggtac 660  
atcaaaatat cggttacgtt gccagattt gtggctgcgg cctcacgtct cctcaaaaag 720  
gaagtgatca tgtcggagat tgacttccag gactgtcgcg cctttgagaa taacatagac 780  
tttgacattc gcttcatggt ggacactgat gtgggtgggtt gcaattggat agagcttccc 840  
atgggtcact ggcaataag gaacagtcac agcaagccgt tgcctgaatc ccgtgccag 900  
attgaagtag acgtggcctt cgacagattt atatcccacg agcccgaagg tgaatggctc 960  
aagggtggctc ccttccggat cctctcctt gatattgaat gcgctggctg caaaggaata 1020  
tttccggaag ccaaaataga tccagtcac cagatagcca atatggtgat aaggcaggga 1080  
gaacgagaac ctttcattag gaatgtctt accctaaatg aatgcgctcc aatcataggc 1140  
agccaggtgt tgtgccacga caaggagacc cagatgctgg acaagtggctc tgcctttgtc 1200  
cgggaagttg acccgatat tttgaccgga tataatatca acaactttga cttcccctat 1260  
ttgcttaacc gagcagctca cttgaaggctc aggaactttg agtatttggg caggattaag 1320  
aacattcggt cggatgatcaa ggaacagatg ttgcagtcga agcagatggg tcgcaggga 1380  
aaccagtacg ttaattttga gggtagagtt cccttcgac tcctctttgt cctgctgcgc 1440  
gactacaaac tacgctcgta cactctcaac gctgtgagct atcactttct gcaggagcaa 1500  
aaggaggatg tgcacatag cattatcaca gatcttcaga atggagacga gcagacacgt 1560  
cgccgttcgg ccatgtactg cctaaaggat gcctacttac cgcttagatt gctggagaag 1620  
ttaatggcca ttgttaacta catggagatg gccagggtga cgggtgtgcc actggagtcc 1680  
ttgctcacc gcggacaaca gataaagggt ttaagtcaat tgctgcgcaa ggccaaaacc 1740



aagggattca tcatgccctc gtacacctct cagggatcgg atgaacagta tgaaggagcg 1800  
actgtgattg aaccaaacg tggctactat gcggacccca tctccacgct ggatttcgcc 1860  
tctctgtatc caagtataat gatggcgcac aatttgtgct acaccacctt ggttttgggt 1920  
ggaactcgtg agaagctgcg gcagcaggag aacctgcagg acgatcaagt ggaacgtacg 1980  
cctgcaaaca actactttgt gaagtctgag gtgcgtcgtg gtctgctccc tgagattctg 2040  
gaatctcttt tggcggccag aaagcgtgcc aaaaatgacc taaaagtgga aacagatccg 2100  
tttaaaagaa aggtcctgga tggcagacag ctggcgtga agatttcggc taattccgtg 2160  
tacggattta ctggcgcaca ggttggaag ttgccatgct tagagatctc gggcagcgtc 2220  
accgcctacg gtcgtaccat gatcgagatg acgaaaaacg aagtggaaac ccattacaca 2280  
caggccaatg gctacgagaa caatgcagtg gtcactacg gcgacactga ttctgtgatg 2340  
gttaatttcg gagtaaaaac tctggagcgc agcatggagc tgggacgcga ggctgccgaa 2400  
ctggtcagtt ccaagttcgt gcacacctat aaattggaat tcgagaaaag ttactatcct 2460  
tacctgctga ttaacaagaa acgctatgcg ggattatact ttacgcgccc agatacctac 2520  
gataaaatgg attgcaaggc catagaaacc gtgaggagag ataactctcc gctggtggcc 2580  
aacctgatga actcctgcct gcagaaacta ctcatcgaaa gggatcccga tgggtgcagtt 2640  
gcctatgtga aacaggtgat agccgatctc ctctgcaatc gcacgacat ctgcacttg 2700  
gtcataacca aggagttggc caaaacggat tacgcagcca aacaggcaca cgttgagctg 2760  
gccgccaaga tgaagaaaag agatcccggc acggcgccca aactggggga tcgagttccc 2820  
tatgtgatct gtgcggcagc caaaaacaca cccgcttacc agaaggccga ggatccgctg 2880  
tatgtgctgg aaaacagcgt gcccatcgat gccacttact acctggaaca gcagctgtct 2940  
aagccgctgc taaggatctt tgaacctatt ttgggcgaca atgccgagtc aattttgtta 3000  
aaaggagaac acacgcgcac acgaactgtg gtaacatcca aagtgggtgg acttgctgga 3060  
tttatgacca agaaaacgct gtgtttgggc tgcaaatccc tgatgcccga gggctacgaa 3120  
caggcctgtc tgtgtccaca ctgcgagcca cgaatgagtg agctgtatca gaaggagtg 3180  
ggtgcgaaga gggaactgga ggagaccttc tctgcctgt ggaccgagtg ccagcgatgc 3240  
caggaatcct tgcacgagga ggttatctgc tccaacagag attgccccat cttctacatg 3300  
cgacagaagg ttgcgatgga tctggacaat caggagaagc ggggtgtgcg attcggcctg 3360  
gccgagtggc aaccattgca tgagtttact gaattgttta atcctataat ttaataatta 3420  
tattactaga agttattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 3457

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 1092

&lt;212&gt; PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

&lt;400&gt; 64

Met Asp Gly Lys Arg Lys Phe Asn Gly Thr Ser Asn Gly His Ala Lys  
1 5 10 15

Lys Pro Arg Asn Pro Asp Asp Asp Glu Glu Met Gly Phe Glu Ala Glu  
20 25 30

Leu Ala Ala Phe Glu Asn Ser Glu Asp Met Asp Gln Thr Leu Leu Met  
35 40 45

Gly Asp Gly Pro Glu Asn Gln Thr Thr Ser Glu Arg Trp Ser Arg Pro  
50 55 60

Pro Pro Pro Glu Leu Asp Pro Ser Lys His Asn Leu Glu Phe Gln Gln  
65 70 75 80

Leu Asp Val Glu Asn Tyr Leu Gly Gln Pro Leu Pro Gly Met Pro Gly  
85 90 95

Ala Gln Ile Gly Pro Val Pro Val Val Arg Met Phe Gly Val Thr Met  
100 105 110

Glu Gly Asn Ser Val Cys Cys His Val His Gly Phe Cys Pro Tyr Phe  
115 120 125

Tyr Ile Glu Ala Pro Ser Gln Phe Glu Glu His His Cys Glu Lys Leu  
130 135 140

Gln Lys Ala Leu Asp Gln Lys Val Ile Ala Asp Ile Arg Asn Asn Lys  
145 150 155 160

Asp Asn Val Gln Glu Ala Val Leu Met Val Glu Leu Val Glu Lys Leu  
165 170 175

Asn Ile His Gly Tyr Asn Gly Asp Lys Lys Gln Arg Tyr Ile Lys Ile  
180 185 190

Ser Val Thr Leu Pro Arg Phe Val Ala Ala Ala Ser Arg Leu Leu Lys  
195 200 205

Lys Glu Val Ile Met Ser Glu Ile Asp Phe Gln Asp Cys Arg Ala Phe  
210 215 220

Glu Asn Asn Ile Asp Phe Asp Ile Arg Phe Met Val Asp Thr Asp Val  
225 230 235 240

Val Gly Cys Asn Trp Ile Glu Leu Pro Met Gly His Trp Arg Ile Arg  
245 250 255

Asn Ser His Ser Lys Pro Leu Pro Glu Ser Arg Cys Gln Ile Glu Val  
260 265 270

Asp Val Ala Phe Asp Arg Phe Ile Ser His Glu Pro Glu Gly Glu Trp  
275 280 285

Ser Lys Val Ala Pro Phe Arg Ile Leu Ser Phe Asp Ile Glu Cys Ala  
290 295 300

Gly Arg Lys Gly Ile Phe Pro Glu Ala Lys Ile Asp Pro Val Ile Gln  
305 310 315 320

Ile Ala Asn Met Val Ile Arg Gln Gly Glu Arg Glu Pro Phe Ile Arg  
325 330 335

Asn Val Phe Thr Leu Asn Glu Cys Ala Pro Ile Ile Gly Ser Gln Val  
340 345 350

Leu Cys His Asp Lys Glu Thr Gln Met Leu Asp Lys Trp Ser Ala Phe  
355 360 365

Val Arg Glu Val Asp Pro Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asn Ile Asn Asn  
370 375 380

Phe Asp Phe Pro Tyr Leu Leu Asn Arg Ala Ala His Leu Lys Val Arg  
385 390 395 400

Asn Phe Glu Tyr Leu Gly Arg Ile Lys Asn Ile Arg Ser Val Ile Lys  
405 410 415

Glu Gln Met Leu Gln Ser Lys Gln Met Gly Arg Arg Glu Asn Gln Tyr

420

425

430

Val Asn Phe Glu Gly Arg Val Pro Phe Asp Leu Leu Phe Val Leu Leu

435

440

445

Arg Asp Tyr Lys Leu Arg Ser Tyr Thr Leu Asn Ala Val Ser Tyr His

450

455

460

Phe Leu Gln Glu Gln Lys Glu Asp Val His His Ser Ile Ile Thr Asp

465

470

475

480

Leu Gln Asn Gly Asp Glu Gln Thr Arg Arg Arg Ser Ala Met Tyr Cys

485

490

495

Leu Lys Asp Ala Tyr Leu Pro Leu Arg Leu Leu Glu Lys Leu Met Ala

500

505

510

Ile Val Asn Tyr Met Glu Met Ala Arg Val Thr Gly Val Pro Leu Glu

515

520

525

Ser Leu Leu Thr Arg Gly Gln Gln Ile Lys Val Leu Ser Gln Leu Leu

530

535

540

Arg Lys Ala Lys Thr Lys Gly Phe Ile Met Pro Ser Tyr Thr Ser Gln

545

550

555

560

Gly Ser Asp Glu Gln Tyr Glu Gly Ala Thr Val Ile Glu Pro Lys Arg

565

570

575

Gly Tyr Tyr Ala Asp Pro Ile Ser Thr Leu Asp Phe Ala Ser Leu Tyr  
580 585 590

Pro Ser Ile Met Met Ala His Asn Leu Cys Tyr Thr Thr Leu Val Leu  
595 600 605

Gly Gly Thr Arg Glu Lys Leu Arg Gln Gln Glu Asn Leu Gln Asp Asp  
610 615 620

Gln Val Glu Arg Thr Pro Ala Asn Asn Tyr Phe Val Lys Ser Glu Val  
625 630 635 640

Arg Arg Gly Leu Leu Pro Glu Ile Leu Glu Ser Leu Leu Ala Ala Arg  
645 650 655

Lys Arg Ala Lys Asn Asp Leu Lys Val Glu Thr Asp Pro Phe Lys Arg  
660 665 670

Lys Val Leu Asp Gly Arg Gln Leu Ala Leu Lys Ile Ser Ala Asn Ser  
675 680 685

Val Tyr Gly Phe Thr Gly Ala Gln Val Gly Lys Leu Pro Cys Leu Glu  
690 695 700

Ile Ser Gly Ser Val Thr Ala Tyr Gly Arg Thr Met Ile Glu Met Thr  
705 710 715 720

Lys Asn Glu Val Glu Ser His Tyr Thr Gln Ala Asn Gly Tyr Glu Asn  
725 730 735

Asn Ala Val Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Ser Val Met Val Asn Phe  
740 745 750

Gly Val Lys Thr Leu Glu Arg Ser Met Glu Leu Gly Arg Glu Ala Ala  
755 760 765

Glu Leu Val Ser Ser Lys Phe Val His Pro Ile Lys Leu Glu Phe Glu  
770 775 780

Lys Val Tyr Tyr Pro Tyr Leu Leu Ile Asn Lys Lys Arg Tyr Ala Gly  
785 790 795 800

Leu Tyr Phe Thr Arg Pro Asp Thr Tyr Asp Lys Met Asp Cys Lys Gly  
805 810 815

Ile Glu Thr Val Arg Arg Asp Asn Ser Pro Leu Val Ala Asn Leu Met  
820 825 830

Asn Ser Cys Leu Gln Lys Leu Leu Ile Glu Arg Asp Pro Asp Gly Ala  
835 840 845

Val Ala Tyr Val Lys Gln Val Ile Ala Asp Leu Leu Cys Asn Arg Ile  
850 855 860

Asp Ile Ser His Leu Val Ile Thr Lys Glu Leu Ala Lys Thr Asp Tyr  
865 870 875 880

Ala Ala Lys Gln Ala His Val Glu Leu Ala Ala Lys Met Lys Lys Arg

885

890

895

Asp Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Gly Asp Arg Val Pro Tyr Val Ile

900

905

910

Cys Ala Ala Ala Lys Asn Thr Pro Ala Tyr Gln Lys Ala Glu Asp Pro

915

920

925

Leu Tyr Val Leu Glu Asn Ser Val Pro Ile Asp Ala Thr Tyr Tyr Leu

930

935

940

Glu Gln Gln Leu Ser Lys Pro Leu Leu Arg Ile Phe Glu Pro Ile Leu

945

950

955

960

Gly Asp Asn Ala Glu Ser Ile Leu Leu Lys Gly Glu His Thr Arg Thr

965

970

975

Arg Thr Val Val Thr Ser Lys Val Gly Gly Leu Ala Gly Phe Met Thr

980

985

990

Lys Lys Thr Ser Cys Leu Gly Cys Lys Ser Leu Met Pro Lys Gly Tyr

995

1000

1005

Glu Gln Ala Cys Leu Cys Pro His Cys Glu Pro Arg Met Ser Glu Leu

1010

1015

1020

Tyr Gln Lys Glu Val Gly Ala Lys Arg Glu Leu Glu Glu Thr Phe Ser

1025

1030

1035

1040



Arg Leu Trp Thr Glu Cys Gln Arg Cys Gln Glu Ser Leu His Glu Glu  
 1045 1050 1055

Val Ile Cys Ser Asn Arg Asp Cys Pro Ile Phe Tyr Met Arg Gln Lys  
 1060 1065 1070

Val Arg Met Asp Leu Asp Asn Gln Glu Lys Arg Val Leu Arg Phe Gly  
 1075 1080 1085

Leu Ala Glu Trp  
 1090

<210> 65

<211> 9064

<212> DNA

<213> Drosophila melanogaster

<400> 65

ctgcagcttg ggaaaatact tttggacacc ccaaaaaaag ttaagcgcgga tattttccca 60  
 ccgtgaccat gacaaccact gtgcgttcga aaggctctct ctctctctct ctctttcgcg 120  
 caaatcaaaa acacaaacag gtttatgtgt gcggagagtg tgtgcgacag agagcggcga 180  
 tatggaactg aaacgactgc aatgttttta tattccggca acgcatttcg cataaattac 240  
 aaattacaca gcataagtga atgcaagtgc aggggcggca gtcaaattggc cagctgcacc 300  
 cagaaaaagg gcaataagat tcgggataac aaaacttgat ggcgttcccg attttcccg 360  
 acaaggagc gtatatgtat gtacacacaa aaaaaaaact taaccagcct tgcataacga 420  
 aacacgtgca ataaaaatat gactgattgt caacctctgc tgcaacttaa ttgctgccgc 480  
 agaggtaaaa ctgaaaaaca taaaaggggg gcgacaagtg cagcaagcga aaaaataaag 540  
 aactcaaaga gcgcatgcgc gccgctctcc cactctctct ccctctctct ctgtcgctcc 600

actgcgctgg aatcttaca ctcgtgtagg tgagccggat tttatgatg atgcgcctgt 660  
gtgcgtgact gcatgatgcc attgcagcgg agaactagta gaaaaagtt cacatttcag 720  
cagttggaaa acacatggcc aacaggccaa ctcaagtggc cagcagctgt ctttatattg 780  
tcagcaaata ggtcatttaa tgcccattac acgaaaatta tagctaaaat ggtcaagctg 840  
tgatgaaata aacataaata ttatatittta tgatttcac agatttttag cattttttt 900  
tttaatttgt gttaggtaga actacaaagc taagaataat tgaggatttc taggtaaaac 960  
ttatatctt aaaaccattt aataattttc ttgttttctt ttattttag taacatttta 1020  
aaattggcgc caaacgtgtt actttacagt gctgtgcaac agccaaatgt cagcattctc 1080  
tgcaacgcgt tagcacattt ctgagacgtt tgcagatttt tggcggcaac aagttattta 1140  
catttattta ttttatttct gctaaacagc acggaaatgt ccgactccgg caaaggcaaa 1200  
gtgctgcaaa atacgggtaa attcgtcagc gagaatcgca cagaaggcgt gagtgggtcaa 1260  
agttcgtgga tttcacgtg aacaagggat ttttcaatct tatccacagg acgacttctt 1320  
caatgaggcg ggctatcgtc aatcccggga gaacgataaa atcgattcga aatatggctt 1380  
cgatcgggtt aaggacagcc aggagcggac gggctacctc atcaacatgc attcggttaag 1440  
ttaggaagcc cataaaacgt tgaaaatcat atccaataat ggctatgcca attgcagaac 1500  
gaagttttgg atgaggacag aagattgatt gctgccttgg acctgttctt catccaaatg 1560  
gatggttccc gcttcaaag caggttgcc tatcagccat atttactcat ccgaccagag 1620  
gataatatgc atctggaagt ggcgcgattt ctgggtcgca agtattccgg ccagatttct 1680  
ggactggagc acataaccaa agaagatttg gatctgcca atcatctatc cggtttgcag 1740  
cagcagtaca taaaactttc gtttctcaat cagacagcca tgaccaaggt tagaaggga 1800  
ctcatgtccg cggtgaagag aaatcaggag cgacagaaat ccaacacata ctacatgcaa 1860  
atgctggcca cctcgtggc ccaatcctcc gcaggttccg aggatgccac attgggtaag 1920  
aggcagcagg attacatgga ttgtattgtg gacataaggg agcatgatgt gccttaccac 1980  
gtcagagtgt ccatcgattt gcgcattctt tgtggacagt ggtacaatat caggtgcaga 2040  
agtggcgtgg aattgcctac gatcacctgc cgaccggata ttctggacag acccgaaccc 2100  
gtggtcctgg cttttgatat agaaaccact aagctgcccc ttaagtttcc cgatgccag 2160  
acggatcagg ttatgatgat ctcgtacatg atcgatggtc agggttatct gataaccaat 2220  
cgtgagatta tatcatcaa tgtggacgat tttgagtaca ctccaagcc ggaattcgag 2280  
ggtaacttta tagtattcaa cgaagagaac gagatgcagc tgctccagcg cttcttcgat 2340

cacatcatgg aggtgctcc ccacatcatt gttacataca acggcgactt cttcgattgg 2400  
cccttcgtgg agacgcgtgc tgcagtgtac gatctggaca tgaagcaaga gattggcttc 2460  
tccaagctac gggatggcaa ttatctaagt cgccctgcca tacacatgga ttgcctatgt 2520  
tgggtgaaac gagattctta ttacctgtt ggatctcaag gcttaaaggc ggtggccaag 2580  
gctaaattac gctatgatcc tgtggaactc gatccggagg atatgtgccg catggccgtg 2640  
gaacagcccc aagtgtggc caattactct gtatccgatg cgggtggccac atactatctg 2700  
tacatgaagt atgtgcatcc atttatcttc gccctaaata cgattattcc catggaaccc 2760  
gatgagatcc taagaaaggg ttccggcaca ctctgtgaaa cgttgctgat ggtggaggct 2820  
taccatgccc agattgtgta tcccaacaag catcagagtg agctgaataa gctctccaac 2880  
gagggacacg tactggattc ggaaacctat gtgggtggtc atgtggaggc ttggaatcg 2940  
ggtgttttcc gggcggacat accatgccgt ttctgtctag atcctgctat ggtcaagcaa 3000  
ctgcaggagc aggttgatgc agttctgcgc cacgctatcg aagtggagga aggcataaccg 3060  
ctcgagaagg tcttgaatct ggatgaagtg cggcaggaga ttgtgcaggg gctacagggt 3120  
ctgcagata tacccaatcg cttggagcag ccggtcatct atcacttga tgtgggtgcc 3180  
atgtacccca acattatctt gaccaatcgc ctgcagccct cggcaatggt tagtgactta 3240  
gattgtgccg cctgtgactt caacaagcca ggagttcggg gcaaacttc catggactgg 3300  
ttgtggcgcg gcgagatgtt gcccgcctcc aggaacgagt ttcagcgcat tcagcagcag 3360  
ctggagaccg agaagtttcc accccttttc cctggcggac cacagcgagc ctttcacgag 3420  
ctctccaagg aggatcaggc ggcgtacgag aagaaacgtc tgacggatta ctgccgcaag 3480  
gcttacaaga agaccaagct aaccaaattg gaaacgcgca cttcgaccat ctgccagaag 3540  
gagaacagct tctatgtgga cacggtgcga gcttttcgcg atcgtcgcta cgagtacaaa 3600  
ggactaacca aagtggcaaa agcatcgggt aatgctgcgg tggcttcggg agacgcggca 3660  
gagatcaagg cagccaaggg cagggaggtg ctctacgatt ccctgcagtt ggcccacaag 3720  
tgcatcctga actccttcta tggctacgtg atgaggagag gagcccgttg gcattccatg 3780  
cctatggccg gcattgtgtg cctcacgggc tcgaatatta tcaccaaggc gagggaaatt 3840  
atcgagcgag ttggctgacc actcgaattg gacactgatg gtatatggtg catattgcct 3900  
ggctcctttc cgcaggagtt taccattcac acgagtcatg agaagaaaaa gaagattaac 3960  
atatcatatc cgaatgcagt gctaaacact atggttaaag atcattttac caacgatcag 4020  
taccacgagt tgaggaagga taaggaaaac aatctacca aatacgatat tcgagatgag 4080

aactctatat tcttcgaggt ggatggaccc taccttgcca tgggtgttacc cgctgccaaa 4140  
gaggagggca agaagctgaa gaaaagatat gcggtcttta atttcgatgg cacactggct 4200  
gaactcaagg gattcgaggt gaagcgacgc ggtgaactgc agctgatcaa aaatttccag 4260  
agttccgtct tcgaagcttt cctcgctggg agcacacttg aggaatgcta tgcactctgtg 4320  
gccaaaggtgg cggattactg gcttgatgta ctctacagca gaggatcaaa tctacccgac 4380  
tcggagctat tcgaacttat ttccggagaac aagagcatgt ccaagaagct tgaggagtat 4440  
ggcgcccaaa agagtacgtc catctccacg gccaaagcat tggctgagtt cctgggcgag 4500  
cagatggtaa aggatgcggg tctggcttgt aagtacatta tttcgaagaa acccgaagga 4560  
gcacccgtca ccgagagagc tattcccttg gccattttcc aatccgaacc gagcgtgagg 4620  
cgacatcacc tgcgtcgctg gcttaaggac aacaccatgg gcgatgcgga tatacgcgat 4680  
gtgctcgatt ggaactacta catagagaga ttgggtggga ccattcagaa gatcataacc 4740  
ataccggcgg cactgcaggg actggccaat ccagtgccca gagttcagca tccggatttg 4800  
ttgcacaaga aaatgctgga gaagaacgat gtgctcaagc agcgtcgcat caatgagatg 4860  
ttcaccagca gacccaaacc gaaacctcta gccacagagg aggacaagct ggccgatatg 4920  
gaagatttgg ctggtaaaga tggcggtgag ggtgctgcag gctgtccgat agtcaccaag 4980  
agaaagagaa tccagctgga ggagcacgat gaggaggagg cacagccgca ggccaccact 5040  
tggcgtcagg ccttgggcg cccaccgccc atcggtgaaa ccagaaagac catcgttgag 5100  
tgggtgagat ttcagaagaa gaaatggaaa tggcagcagg atcagcgcca gcgtaatcgc 5160  
caggcgagca agcgaactcg aggcgaggat ccacgctaca ctgggcggtt ccttagacgt 5220  
gcacaacgca ccctgttggga ccagccgtgg cagatcgtag agttgggtgcc cgtcgacgac 5280  
ctgggccact tcaactgtgtg ggccttaatc ggcaagagt tgcacaagat caagttgacg 5340  
gtaccgagga ttttctatgt taatcagcga agtgctgctc ctccagagga gggtaactt 5400  
tggcgcaagg tcaatcgagt tctgccacga tccagacctg ttttcaatct ctatcgatat 5460  
agtgtgcccg aacagctctt ccgggataac tcgctgggca tgctggcgga tctggcgacg 5520  
cccgacattg agggcatata cgagacgcag atgacgttgg aatttcgcgc cctcatggac 5580  
atgggctgca tttgcggtgt ccagcgcgag gaggcacgtc gcttggccca attggccacc 5640  
aaggatctgg aaacatttag catcgagcag ctggaacagg gccccagact caggtcaaat 5700  
atttggctag cgccaacaat cgattgcgca aaatctactt gtatcagcat aacacaccga 5760  
cggccaagaa ggagatctgt gtcactgac ccaatgccta gcaagaaggc atttgttttt 5820

gccttggaca cagtgcgtgc caatcaaag ccgaacatga ggcaattgta taccgccgag 5880  
cgtttggccc tgctcaagaa tctgacggca gaggagcaag ataaaattcc tgtagaggat 5940  
tacacatttg aggttctcat tgaggatgat gtcaaacaaa tttaccggca catacagcgg 6000  
gcaactgacca cctacaaaca ggagcatcag ggaccacca ccattctgtg ctttcaaacg 6060  
gcgctgtcgg cgcgtaaaact cagcctggcc atgccgatcc tgctggagtt tccccaggct 6120  
cagattcata tctccgatga cgctagttag ctttctggcc ttgattggca gcgacagggc 6180  
tccagggcag tgatacgcca ctttctgaat ctgaacaatg ttcttgattt gatgttggat 6240  
cagtgtcgct actttcatgt gccattggc aatatgccgc cggatactgt gcttttcgga 6300  
gcggatcttt tcttcgctcg cttgctgcag cggcataact ttgtgctgtg gtggtcggcg 6360  
agtaccagac cagatttggg tggccgggag gcggacgaca gccggctgtt ggcggaattc 6420  
gaggagagca ttagtgtggt gcaaaacaag gccggtttct atccggatgt ttgcgtggag 6480  
ctggctctgg atagcctggc ggtgagtgcc ctgctccaat cgactaggat tcaggaaatg 6540  
gaaggcgct catctgcat tacgttcgat gtgatgccgc aggtctcgct ggaggagatg 6600  
attggcactg ttccggcggc caccttgccg agttatgatg aaacggccct ctgttccgcc 6660  
gccttccgcg ttatgcgctc catggtgaat ggttggtgc gagaggtatc catcaatagg 6720  
aacatcttct cggacttcca gatcgtgcac ttctatcgat ggggtcgctc cagtaatgca 6780  
ctactctatg atcctgcttt gagaagatct ctgaataatc tgatgaggaa gatgttcttg 6840  
cgcatatag cagagttcaa gagattgggc gccaccatta tctatgcgga ctttaacagg 6900  
attatcctta gttcgggtaa gaaaaccgtt tccgatgcc tgggctatgt ggactacatt 6960  
gtgcaaagct tgaggaacaa ggagatgttc cactccatcc aactgagctt cgagcaatgc 7020  
tggaacttta tgctctggat ggaccaggca aatttctcgg gaattagggg aaagctacca 7080  
aagggaatcg atgagacagt gtcgtcaata gtttccacta ccatgatacg ggattctgaa 7140  
cgcaatcaag atgacgacga ggatgaagaa gaggattcgg aaaaccgtga tccagtggag 7200  
agcaacgagg ccgagcagga tcaagaggat gagctgtccc tggagctcaa ctggacaatt 7260  
ggcgaacatc tgcccgatga aaacgagtgc cgcgaaaagt ttgaatccct gctgaccctc 7320  
tttatgcaat ctttggccga aaagaagacc accgagcagg ccatcaagga tatctcgac 7380  
tgcgcgttcg actttatcct gaaactgcac aaaaactacg gcaagggcaa gccagccccg 7440  
ggcctagaac ttatccgcac tctgatcaag gcgttgagtg tggacaaaac gctggcggag 7500  
cagatcaacg agttgcgccg aaatatgctg cgtctggtgg ggattggtga gttctcggac 7560

ttggctgagt gggaggatcc ctgcgacagt cacatcatca acgaggatcat ctgcaaagcg 7620  
tgtaatcact gcagggacct ggatctctgc aaggacaagc atcgcgccat gaaagatgga 7680  
gtgtgagtta cacaaatcag tacacataat ttaccacaaa taattgatta atgttgatt 7740  
tttcagaccc gtttggctgt gtgcccagtg ctatgtggcc tatgataacg aggagatcga 7800  
aatgagaatg ctggatgcac tgcagcgcaa gatgatgtcc tatgtgctgc aggatttgcg 7860  
ctgttcgcgc tgcagcgaga tcaagcgca gaatctggca gagttctgca cttgcgctgg 7920  
caactttgtg cccctcatca gcgggaagga catccagaca ctgctgggca cattcaacaa 7980  
gggtggctgcc aaccacaaga tgcagttgct ccagcagact gttcatcagg cgctgaccac 8040  
gccacgctag gacctagttt gttgttgttt tctagatcgt agggcttaaa tatattgtat 8100  
ttataatgga atttaattcg attttaatga gttttagatt tatgatgtcg cacaagacga 8160  
atgtctgtgt taaggaatgg acgcgcttta taattcaatg agattcacac acttttagtg 8220  
gctttcgcac acgaatcgct tgttgttttc ccgattttat tggttttttt tgttgacttg 8280  
cccgcggttt ttgggggcgc acaggcgaaa tcagcagctg aacttaaagc aattagacta 8340  
actcattcgc gaagagcgat ctctactgtg gggcctgggt gatgggatcg accttaacat 8400  
cggggaactg gaattcgggg aacttcagca tgtcggctct gccatcgctg ccaaactgct 8460  
tggccacacg gtccagttcg gtcttcagct cccgctcaat atcgggattg gagtccacca 8520  
gcttgccacc gctgcaggtg agcaaaacaa ggattatgtc gaggcacacc aacggatgaa 8580  
ggagccagaa cttacgcgct cttctgcttg tactcgcgca ctttgtccag aaacagctgc 8640  
tggatgggat cggaggcctt gttcagggca ggggcaacga ttccgaagt acgacgggcc 8700  
tctgtgcgca ggacacgcat gccactcagc agggattgcg acagcatctg gaattgatag 8760  
atccatgtta gaatagcaat aaacggcctt cttcatatgt aaccttaaaa aggttatgta 8820  
atacaattgt ttgtttcgac gtttcccaat cggttttcaa gccgactttg ctagcaacta 8880  
tatcttgat tcaaattgta ttccctcaat cgatttttat gtattttaaa tcttgttttc 8940  
accttatttt cttttgcaaa tgctaacttt cgtgcggaaa agtgacaatt gtcagttcac 9000  
aatggcagtt ggtgttagtg atgtgcgct gatgggtgta tgcgatacta tcgtatgtaa 9060  
gctt 9064

&lt;211&gt; 2220

&lt;212&gt; PRT

<213> *Drosophila melanogaster*

&lt;400&gt; 66

Met Ser Asp Ser Gly Lys Gly Lys Val Leu Gln Asn Thr Gly Lys Phe

1 5 10 15

Val Ser Glu Asn Arg Thr Glu Gly Asp Asp Phe Phe Asn Glu Ala Gly

20 25 30

Tyr Arg Gln Ser Arg Glu Asn Asp Lys Ile Asp Ser Lys Tyr Gly Phe

35 40 45

Asp Arg Val Lys Asp Ser Gln Glu Arg Thr Gly Tyr Leu Ile Asn Met

50 55 60

His Ser Asn Glu Val Leu Asp Glu Asp Arg Arg Leu Ile Ala Ala Leu

65 70 75 80

Asp Leu Phe Phe Ile Gln Met Asp Gly Ser Arg Phe Lys Cys Thr Val

85 90 95

Ala Tyr Gln Pro Tyr Leu Leu Ile Arg Pro Glu Asp Asn Met His Leu

100 105 110

Glu Val Ala Arg Phe Leu Gly Arg Lys Tyr Ser Gly Gln Ile Ser Gly

115 120 125

Leu Glu His Ile Thr Lys Glu Asp Leu Asp Leu Pro Asn His Leu Ser  
130 135 140

Gly Leu Gln Gln Gln Tyr Ile Lys Leu Ser Phe Leu Asn Gln Thr Ala  
145 150 155 160

Met Thr Lys Val Arg Arg Glu Leu Met Ser Ala Val Lys Arg Asn Gln  
165 170 175

Glu Arg Gln Lys Ser Asn Thr Tyr Tyr Met Gln Met Leu Ala Thr Ser  
180 185 190

Leu Ala Gln Ser Ser Ala Gly Ser Glu Asp Ala Thr Leu Gly Lys Arg  
195 200 205

Gln Gln Asp Tyr Met Asp Cys Ile Val Asp Ile Arg Glu His Asp Val  
210 215 220

Pro Tyr His Val Arg Val Ser Ile Asp Leu Arg Ile Phe Cys Gly Gln  
225 230 235 240

Trp Tyr Asn Ile Arg Cys Arg Ser Gly Val Glu Leu Pro Thr Ile Thr  
245 250 255

Cys Arg Pro Asp Ile Leu Asp Arg Pro Glu Pro Val Val Leu Ala Phe  
260 265 270

Asp Ile Glu Thr Thr Lys Leu Pro Leu Lys Phe Pro Asp Ala Gln Thr  
275 280 285



Asp Gln Val Met Met Ile Ser Tyr Met Ile Asp Gly Gln Gly Tyr Leu  
290 295 300

Ile Thr Asn Arg Glu Ile Ile Ser Ser Asn Val Asp Asp Phe Glu Tyr  
305 310 315 320

Thr Pro Lys Pro Glu Phe Glu Gly Asn Phe Ile Val Phe Asn Glu Glu  
325 330 335

Asn Glu Met Gln Leu Leu Gln Arg Phe Phe Asp His Ile Met Glu Val  
340 345 350

Arg Pro His Ile Ile Val Thr Tyr Asn Gly Asp Phe Phe Asp Trp Pro  
355 360 365

Phe Val Glu Thr Arg Ala Ala Val Tyr Asp Leu Asp Met Lys Gln Glu  
370 375 380

Ile Gly Phe Ser Lys Leu Arg Asp Gly Asn Tyr Leu Ser Arg Pro Ala  
385 390 395 400

Ile His Met Asp Cys Leu Cys Trp Val Lys Arg Asp Ser Tyr Leu Pro  
405 410 415

Val Gly Ser Gln Gly Leu Lys Ala Val Ala Lys Ala Lys Leu Arg Tyr  
420 425 430

Asp Pro Val Glu Leu Asp Pro Glu Asp Met Cys Arg Met Ala Val Glu

435

440

445

Gln Pro Gln Val Leu Ala Asn Tyr Ser Val Ser Asp Ala Val Ala Thr

450

455

460

Tyr Tyr Leu Tyr Met Lys Tyr Val His Pro Phe Ile Phe Ala Leu Asn

465

470

475

480

Thr Ile Ile Pro Met Glu Pro Asp Glu Ile Leu Arg Lys Gly Ser Gly

485

490

495

Thr Leu Cys Glu Thr Leu Leu Met Val Glu Ala Tyr His Ala Gln Ile

500

505

510

Val Tyr Pro Asn Lys His Gln Ser Glu Leu Asn Lys Leu Ser Asn Glu

515

520

525

Gly His Val Leu Asp Ser Glu Thr Tyr Val Gly Gly His Val Glu Ala

530

535

540

Leu Glu Ser Gly Val Phe Arg Ala Asp Ile Pro Cys Arg Phe Arg Leu

545

550

555

560

Asp Pro Ala Met Val Lys Gln Leu Gln Glu Gln Val Asp Ala Val Leu

565

570

575

Arg His Ala Ile Glu Val Glu Glu Gly Ile Pro Leu Glu Lys Val Leu

580

585

590

Asn Leu Asp Glu Val Arg Gln Glu Ile Val Gln Gly Leu Gln Gly Leu  
595 600 605

His Asp Ile Pro Asn Arg Leu Glu Gln Pro Val Ile Tyr His Leu Asp  
610 615 620

Val Gly Ala Met Tyr Pro Asn Ile Ile Leu Thr Asn Arg Leu Gln Pro  
625 630 635 640

Ser Ala Met Val Ser Asp Leu Asp Cys Ala Ala Cys Asp Phe Asn Lys  
645 650 655

Pro Gly Val Arg Cys Lys Arg Ser Met Asp Trp Leu Trp Arg Gly Glu  
660 665 670

Met Leu Pro Ala Ser Arg Asn Glu Phe Gln Arg Ile Gln Gln Gln Leu  
675 680 685

Glu Thr Glu Lys Phe Pro Pro Leu Phe Pro Gly Gly Pro Gln Arg Ala  
690 695 700

Phe His Glu Leu Ser Lys Glu Asp Gln Ala Ala Tyr Glu Lys Lys Arg  
705 710 715 720

Leu Thr Asp Tyr Cys Arg Lys Ala Tyr Lys Lys Thr Lys Leu Thr Lys  
725 730 735

Leu Glu Thr Arg Thr Ser Thr Ile Cys Gln Lys Glu Asn Ser Phe Tyr  
740 745 750

Val Asp Thr Val Arg Ala Phe Arg Asp Arg Arg Tyr Glu Tyr Lys Gly  
755 760 765

Leu Thr Lys Val Ala Lys Ala Ser Val Asn Ala Ala Val Ala Ser Gly  
770 775 780

Asp Ala Ala Glu Ile Lys Ala Ala Lys Gly Arg Glu Val Leu Tyr Asp  
785 790 795 800

Ser Leu Gln Leu Ala His Lys Cys Ile Leu Asn Ser Phe Tyr Gly Tyr  
805 810 815

Val Met Arg Arg Gly Ala Arg Trp His Ser Met Pro Met Ala Gly Ile  
820 825 830

Val Cys Leu Thr Gly Ser Asn Ile Ile Thr Lys Ala Arg Glu Ile Ile  
835 840 845

Glu Arg Val Gly Arg Pro Leu Glu Leu Asp Thr Asp Gly Ile Trp Cys  
850 855 860

Ile Leu Pro Gly Ser Phe Pro Gln Glu Phe Thr Ile His Thr Ser His  
865 870 875 880

Glu Lys Lys Lys Lys Ile Asn Ile Ser Tyr Pro Asn Ala Val Leu Asn  
885 890 895

Thr Met Val Lys Asp His Phe Thr Asn Asp Gln Tyr His Glu Leu Arg

900

905

910

Lys Asp Lys Glu Asn Asn Leu Pro Lys Tyr Asp Ile Arg Asp Glu Asn

915

920

925

Ser Ile Phe Phe Glu Val Asp Gly Pro Tyr Leu Ala Met Val Leu Pro

930

935

940

Ala Ala Lys Glu Glu Gly Lys Lys Leu Lys Lys Arg Tyr Ala Val Phe

945

950

955

960

Asn Phe Asp Gly Thr Leu Ala Glu Leu Lys Gly Phe Glu Val Lys Arg

965

970

975

Arg Gly Glu Leu Gln Leu Ile Lys Asn Phe Gln Ser Ser Val Phe Glu

980

985

990

Ala Phe Leu Ala Gly Ser Thr Leu Glu Glu Cys Tyr Ala Ser Val Ala

995

1000

1005

Lys Val Ala Asp Tyr Trp Leu Asp Val Leu Tyr Ser Arg Gly Ser Asn

1010

1015

1020

Leu Pro Asp Ser Glu Leu Phe Glu Leu Ile Ser Glu Asn Lys Ser Met

1025

1030

1035

1040

Ser Lys Lys Leu Glu Glu Tyr Gly Ala Gln Lys Ser Thr Ser Ile Ser

1045

1050

1055

Thr Ala Lys Arg Leu Ala Glu Phe Leu Gly Glu Gln Met Val Lys Asp  
1060 1065 1070

Ala Gly Leu Ala Cys Lys Tyr Ile Ile Ser Lys Lys Pro Glu Gly Ala  
1075 1080 1085

Pro Val Thr Glu Arg Ala Ile Pro Leu Ala Ile Phe Gln Ser Glu Pro  
1090 1095 1100

Ser Val Arg Arg His His Leu Arg Arg Trp Leu Lys Asp Asn Thr Met  
1105 1110 1115 1120

Gly Asp Ala Asp Ile Arg Asp Val Leu Asp Trp Asn Tyr Tyr Ile Glu  
1125 1130 1135

Arg Leu Gly Gly Thr Ile Gln Lys Ile Ile Thr Ile Pro Ala Ala Leu  
1140 1145 1150

Gln Gly Leu Ala Asn Pro Val Pro Arg Val Gln His Pro Asp Trp Leu  
1155 1160 1165

His Lys Lys Met Leu Glu Lys Asn Asp Val Leu Lys Gln Arg Arg Ile  
1170 1175 1180

Asn Glu Met Phe Thr Ser Arg Pro Lys Pro Lys Pro Leu Ala Thr Glu  
1185 1190 1195 1200

Glu Asp Lys Leu Ala Asp Met Glu Asp Leu Ala Gly Lys Asp Gly Gly  
1205 1210 1215

Glu Gly Ala Ala Gly Cys Pro Ile Val Thr Lys Arg Lys Arg Ile Gln  
1220 1225 1230

Leu Glu Glu His Asp Glu Glu Glu Ala Gln Pro Gln Ala Thr Thr Trp  
1235 1240 1245

Arg Gln Ala Leu Gly Ala Pro Pro Pro Ile Gly Glu Thr Arg Lys Thr  
1250 1255 1260

Ile Val Glu Trp Val Arg Phe Gln Lys Lys Lys Trp Lys Trp Gln Gln  
1265 1270 1275 1280

Asp Gln Arg Gln Arg Asn Arg Gln Ala Ser Lys Arg Thr Arg Gly Glu  
1285 1290 1295

Asp Pro Arg Tyr Thr Gly Arg Phe Leu Arg Arg Ala Gln Arg Thr Leu  
1300 1305 1310

Leu Asp Gln Pro Trp Gln Ile Val Gln Leu Val Pro Val Asp Asp Leu  
1315 1320 1325

Gly His Phe Thr Val Trp Ala Leu Ile Gly Glu Glu Leu His Lys Ile  
1330 1335 1340

Lys Leu Thr Val Pro Arg Ile Phe Tyr Val Asn Gln Arg Ser Ala Ala  
1345 1350 1355 1360

Pro Pro Glu Glu Gly Gln Leu Trp Arg Lys Val Asn Arg Val Leu Pro

1365

1370

1375

Arg Ser Arg Pro Val Phe Asn Leu Tyr Arg Tyr Ser Val Pro Glu Gln

1380

1385

1390

Leu Phe Arg Asp Asn Ser Leu Gly Met Leu Ala Asp Leu Ala Thr Pro

1395

1400

1405

Asp Ile Glu Gly Ile Tyr Glu Thr Gln Met Thr Leu Glu Phe Arg Ala

1410

1415

1420

Leu Met Asp Met Gly Cys Ile Cys Gly Val Gln Arg Glu Glu Ala Arg

1425

1430

1435

1440

Arg Leu Ala Gln Leu Ala Thr Lys Asp Leu Glu Thr Phe Ser Ile Glu

1445

1450

1455

Gln Leu Glu Gln Gly Pro Arg Leu Arg Ser Asn Ile Trp Leu Ala Pro

1460

1465

1470

Thr Ile Asp Cys Ala Lys Ser Thr Cys Ile Ser Ile Thr His Arg Arg

1475

1480

1485

Pro Arg Arg Arg Ser Val Ser Leu Ile Pro Met Pro Ser Lys Lys Ala

1490

1495

1500

Phe Val Phe Ala Leu Asp Thr Val Arg Ala Asn Gln Met Pro Asn Met

1505

1510

1515

1520



Arg Gln Leu Tyr Thr Ala Glu Arg Leu Ala Leu Leu Lys Asn Leu Thr  
1525 1530 1535

Ala Glu Glu Gln Asp Lys Ile Pro Val Glu Asp Tyr Thr Phe Glu Val  
1540 1545 1550

Leu Ile Glu Val Asp Val Lys Gln Ile Tyr Arg His Ile Gln Arg Ala  
1555 1560 1565

Leu Thr Thr Tyr Lys Gln Glu His Gln Gly Pro Pro Thr Ile Leu Cys  
1570 1575 1580

Leu Gln Thr Ala Leu Ser Ala Arg Lys Leu Ser Leu Ala Met Pro Ile  
1585 1590 1595 1600

Leu Leu Glu Phe Pro Gln Ala Gln Ile His Ile Ser Asp Asp Ala Ser  
1605 1610 1615

Leu Leu Ser Gly Leu Asp Trp Gln Arg Gln Gly Ser Arg Ala Val Ile  
1620 1625 1630

Arg His Phe Leu Asn Leu Asn Asn Val Leu Asp Leu Met Leu Asp Gln  
1635 1640 1645

Cys Arg Tyr Phe His Val Pro Ile Gly Asn Met Pro Pro Asp Thr Val  
1650 1655 1660

Leu Phe Gly Ala Asp Leu Phe Phe Ala Arg Leu Leu Gln Arg His Asn  
1665 1670 1675 1680

Phe Val Leu Trp Trp Ser Ala Ser Thr Arg Pro Asp Leu Gly Gly Arg  
1685 1690 1695

Glu Ala Asp Asp Ser Arg Leu Leu Ala Glu Phe Glu Glu Ser Ile Ser  
1700 1705 1710

Val Val Gln Asn Lys Ala Gly Phe Tyr Pro Asp Val Cys Val Glu Leu  
1715 1720 1725

Ala Leu Asp Ser Leu Ala Val Ser Ala Leu Leu Gln Ser Thr Arg Ile  
1730 1735 1740

Gln Glu Met Glu Gly Ala Ser Ser Ala Ile Thr Phe Asp Val Met Pro  
1745 1750 1755 1760

Gln Val Ser Leu Glu Glu Met Ile Gly Thr Val Pro Ala Ala Thr Leu  
1765 1770 1775

Pro Ser Tyr Asp Glu Thr Ala Leu Cys Ser Ala Ala Phe Arg Val Met  
1780 1785 1790

Arg Ser Met Val Asn Gly Trp Leu Arg Glu Val Ser Ile Asn Arg Asn  
1795 1800 1805

Ile Phe Ser Asp Phe Gln Ile Val His Phe Tyr Arg Trp Val Arg Ser  
1810 1815 1820

Ser Asn Ala Leu Leu Tyr Asp Pro Ala Leu Arg Arg Ser Leu Asn Asn

1825	1830	1835	1840
Leu Met Arg Lys Met Phe Leu Arg Ile Ile Ala Glu Phe Lys Arg Leu			
1845	1850	1855	
Gly Ala Thr Ile Ile Tyr Ala Asp Phe Asn Arg Ile Ile Leu Ser Ser			
1860	1865	1870	
Gly Lys Lys Thr Val Ser Asp Ala Leu Gly Tyr Val Asp Tyr Ile Val			
1875	1880	1885	
Gln Ser Leu Arg Asn Lys Glu Met Phe His Ser Ile Gln Leu Ser Phe			
1890	1895	1900	
Glu Gln Cys Trp Asn Phe Met Leu Trp Met Asp Gln Ala Asn Phe Ser			
1905	1910	1915	1920
Gly Ile Arg Gly Lys Leu Pro Lys Gly Ile Asp Glu Thr Val Ser Ser			
1925	1930	1935	
Ile Val Ser Thr Thr Met Ile Arg Asp Ser Glu Arg Asn Gln Asp Asp			
1940	1945	1950	
Asp Glu Asp Glu Glu Glu Asp Ser Glu Asn Arg Asp Pro Val Glu Ser			
1955	1960	1965	
Asn Glu Ala Glu Gln Asp Gln Glu Asp Glu Leu Ser Leu Glu Leu Asn			
1970	1975	1980	

Trp Thr Ile Gly Glu His Leu Pro Asp Glu Asn Glu Cys Arg Glu Lys  
1985 1990 1995 2000

Phe Glu Ser Leu Leu Thr Leu Phe Met Gln Ser Leu Ala Glu Lys Lys  
2005 2010 2015

Thr Thr Glu Gln Ala Ile Lys Asp Ile Ser His Cys Ala Phe Asp Phe  
2020 2025 2030

Ile Leu Lys Leu His Lys Asn Tyr Gly Lys Gly Lys Pro Ser Pro Gly  
2035 2040 2045

Leu Glu Leu Ile Arg Thr Leu Ile Lys Ala Leu Ser Val Asp Lys Thr  
2050 2055 2060

Leu Ala Glu Gln Ile Asn Glu Leu Arg Arg Asn Met Leu Arg Leu Val  
2065 2070 2075 2080

Gly Ile Gly Glu Phe Ser Asp Leu Ala Glu Trp Glu Asp Pro Cys Asp  
2085 2090 2095

Ser His Ile Ile Asn Glu Val Ile Cys Lys Ala Cys Asn His Cys Arg  
2100 2105 2110

Asp Leu Asp Leu Cys Lys Asp Lys His Arg Ala Met Lys Asp Gly Cys  
2115 2120 2125

Tyr Val Ala Tyr Asp Asn Glu Glu Ile Glu Met Arg Met Leu Asp Ala  
2130 2135 2140

Leu Gln Arg Lys Met Met Ser Tyr Val Leu Gln Asp Leu Arg Cys Ser  
2145                      2150                      2155                      2160

Arg Cys Ser Glu Ile Lys Arg Glu Asn Leu Ala Glu Phe Cys Thr Cys  
                    2165                      2170                      2175

Ala Gly Asn Phe Val Pro Leu Ile Ser Gly Lys Asp Ile Gln Thr Leu  
                    2180                      2185                      2190

Leu Gly Thr Phe Asn Lys Val Ala Ala Asn His Lys Met Gln Leu Leu  
                    2195                      2200                      2205

Gln Gln Thr Val His Gln Ala Leu Thr Thr Pro Arg  
                    2210                      2215                      2220

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図 1】

本発明の例示的实施例である実施例 1 における薬剤耐性の付与の様子を示す例である。

##### 【図 2】

本発明の例示的实施例である実施例 1 における高温耐性の付与の様子を示す例である。

##### 【図 3】

本発明の例示的实施例である実施例 1 における高温耐性の付与の様子を示す写真が示される。S. cerevisiae の pol3 変異株 (DNA ポリメラーゼ  $\delta$  のエクソヌクレアーゼ欠損) から高温でも生育できる変異株を単離した。\* 印が親株 (AMY128-1) で他の 7 つは取得した高温耐性変異株である。

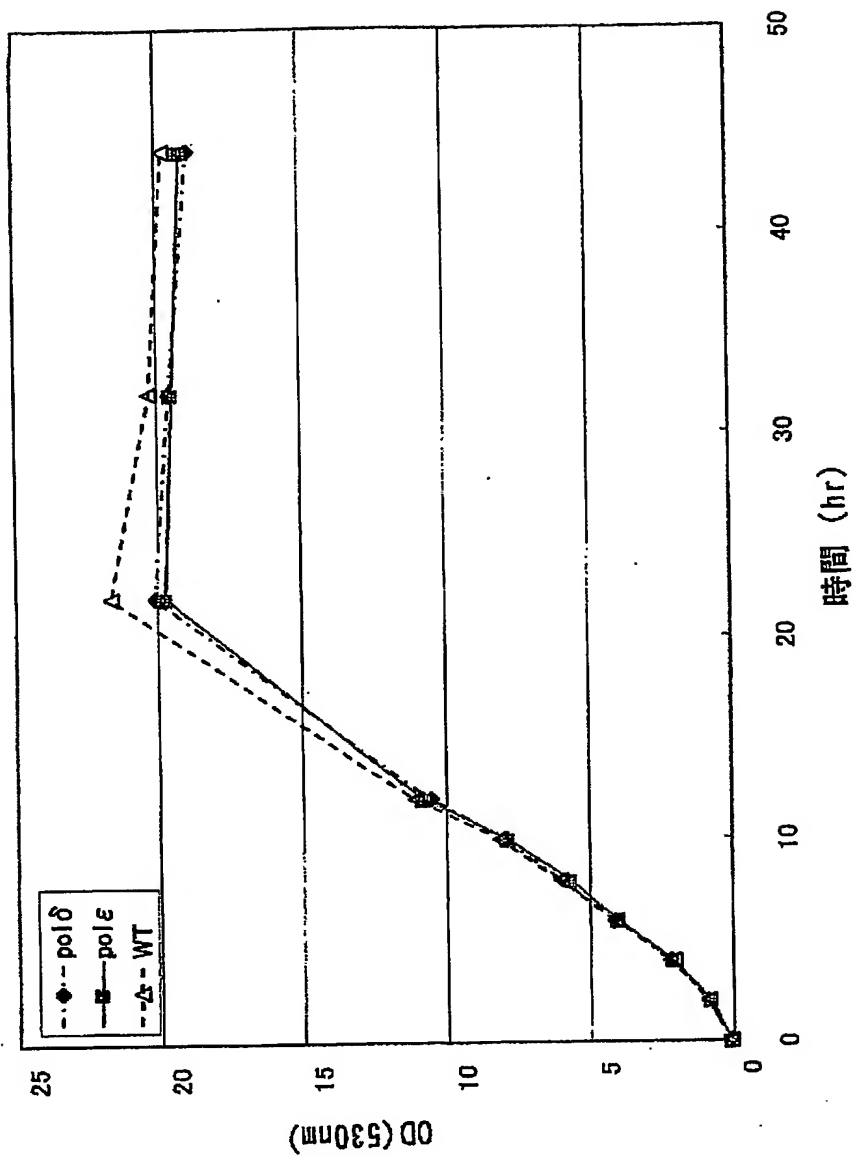
##### 【図 4】

本発明の例示的实施例である実施例 1 における高温耐性の付与の様子を示す別の写真が示される。S. cerevisiae の pol2 変異株 (DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  のエクソヌクレアーゼ欠損) から高温でも生育できる変異株を単離した。\* 印が親株 (AMY 2-6) で他の 7 つは取得した高温耐性変異株である。

【書類名】 図面

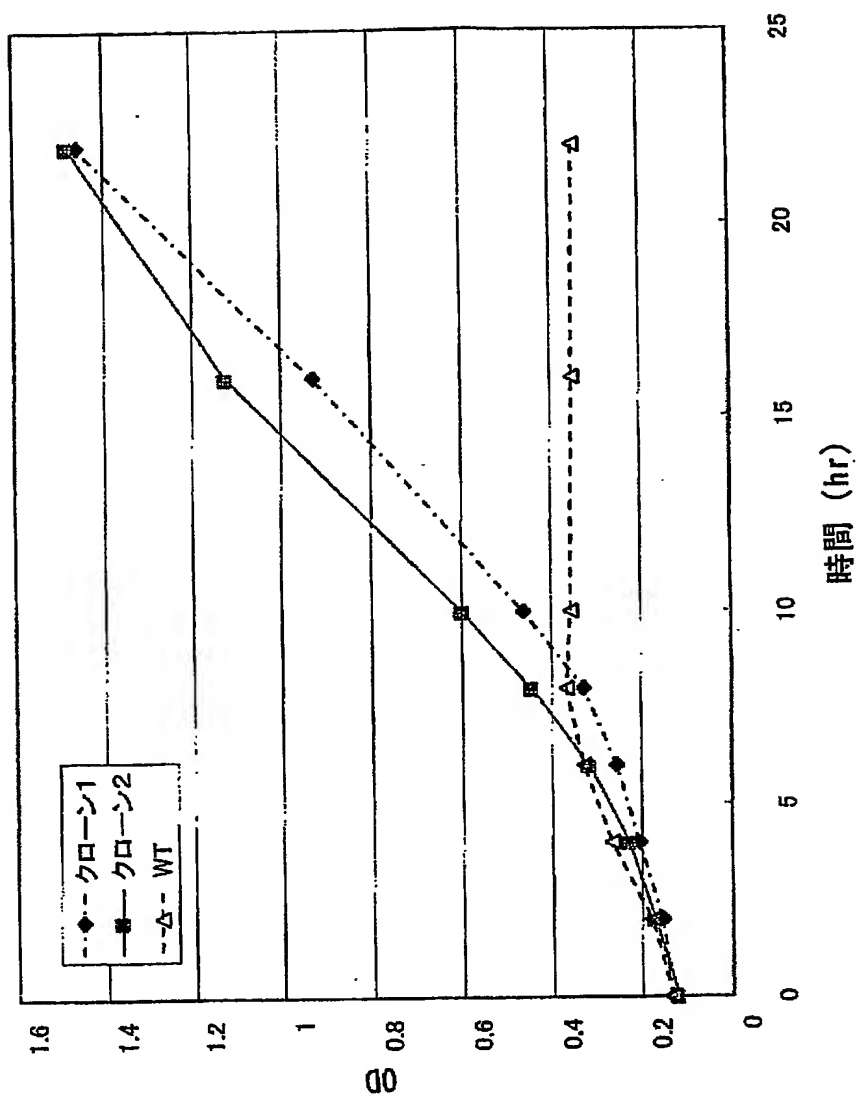
【図 1】

図 1 変異株の成長曲線



【図 2】

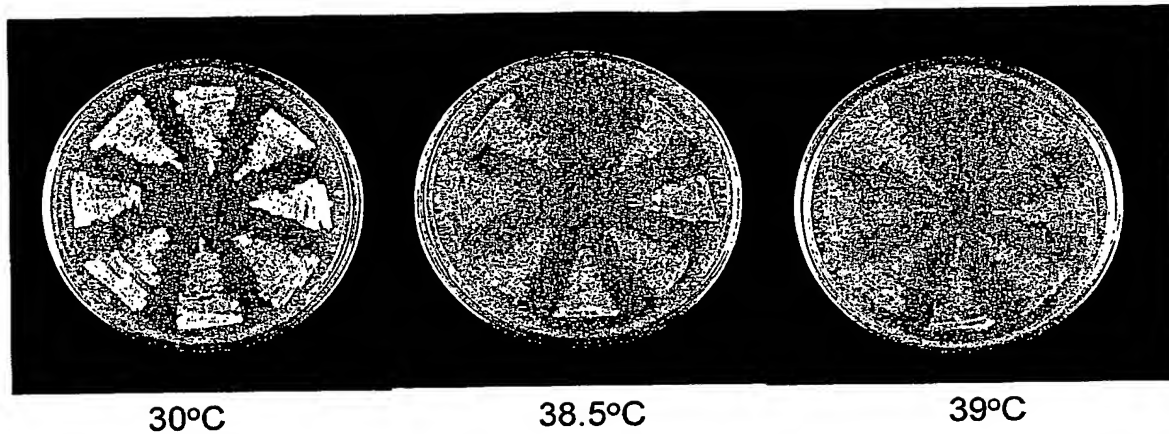
図2 高温耐性株の成長曲線





【図 3】

## 高温耐性変異株の単離(1)

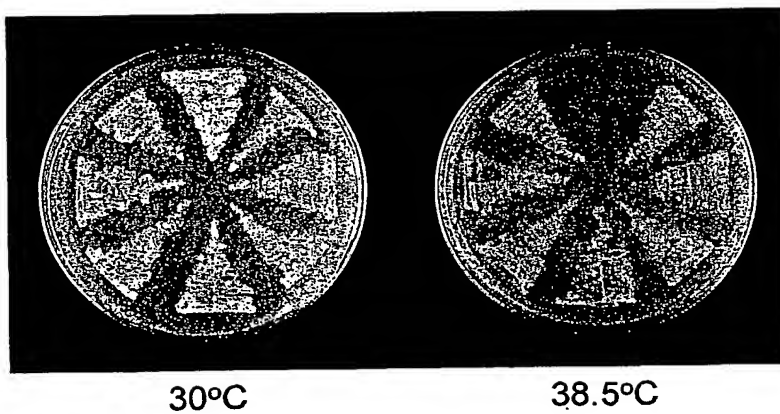


*S. cerevisiae* の *pol3* 変異株 (DNAポリメラーゼ  $\delta$  のエクソヌクレアーゼ欠損) から高温でも生育できる変異株を単離した。

\* 印が親株 (AMY128-1) で他の7つは取得した高温耐性変異株。

【図 4】

## 高温耐性変異株の単離(2)



*S. cerevisiae* の *pol2* 変異株 (DNAポリメラーゼ  $\epsilon$  のエクソヌクレアーゼ欠損) から高温でも生育できる変異株を単離した。

\* 印が親株 (AMY2-6) で他の7つは取得した高温耐性変異株。

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

天然の進化に即しつつ、所望の遺伝形質を生物に付与する方法を提供すること

。

【解決手段】

生物の遺伝形質の変換速度を調節する方法であって、（a）該生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を調節する工程、を包含する、方法。本発明はまた、遺伝形質が調節された生物を生産する方法であって、（a）該生物の遺伝子の複製におけるエラープローン頻度を変化させる工程；および（b）得られた該生物を再生産する工程、を包含する、方法をも提供する。

【選択図】 なし

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-092898
受付番号	50300521878
書類名	特許願
担当官	西村 明夫 2206
作成日	平成 15 年 5 月 12 日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	591188402
【住所又は居所】	東京都江戸川区西葛西 6-6-8-605
【氏名又は名称】	古澤 満

## 【特許出願人】

【識別番号】	503116693
【住所又は居所】	東京都千代田区内幸町 1-1-1
【氏名又は名称】	株式会社ネオ・モルガン研究所

## 【代理人】

【識別番号】	申請人
【住所又は居所】	100078282
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区城見 1 丁目 2 番 27 号 クリスタル タワー 15 階
【氏名又は名称】	山本 秀策

## 【選任した代理人】

【識別番号】	100062409
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区城見 1 丁目 2 番 27 号 クリ スタルタワー 15 階 山本秀策特許事務所
【氏名又は名称】	安村 高明

## 【選任した代理人】

【識別番号】	100113413
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区城見 1 丁目 2 番 27 号 クリ スタルタワー 15 階 山本秀策特許事務所
【氏名又は名称】	森下 夏樹

次頁無

特願 2 0 0 3 - 0 9 2 8 9 8

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 9 1 1 8 8 4 0 2 ]

1. 変 更 年 月 日

1 9 9 1 年 8 月 2 8 日

[ 変 更 理 由 ]

新 規 登 録

住 所

東 京 都 江 戸 川 区 西 葛 西 6 - 6 - 8 - 6 0 5

氏 名

古 澤 満

特願 2003-092898

出願人履歴情報

識別番号

[503116693]

1. 変更年月日

2003年 3月28日

[変更理由]

新規登録

住所

東京都千代田区内幸町1-1-1

氏名

株式会社ネオ・モルガン研究所